MARCELI NENCKI

OPERA OMNIA

MARCELI NENCKI

OPERA OMNIA

GESAMMELTE ARBEITEN

VON

PROF. M. NENCKI

ZWEITER BAND

1886 — 1901

BRAUNSCHWEIG

DRUCK UND VERLAG VON FRIEDRICH VIEWEG UND SOHN

1904

INHALT DES ZWEITEN BANDES.

Die mit einem Stern (*) versehenen Arbeiten sind nur als Referate abgedruckt.

1886

1887

1888

1891

1892

Arbeiten aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Institutes für experimentell Medicin in St. Petersburg.

1893

1894

1895

1896

1897

1898

1899

1900

1901

1886

Die Anaërobiose und die Gährungen

von

M. Nencki.

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **21**, 299.

Die Grundidee der Pasteur'schen Theorie der Gährung ist bekanntlich die, dass Gährung Leben ohne atmosphärischen Sauerstoff ist. Diese von verschiedener Seite bezweifelte Möglichkeit des Lebens ist jetzt eine sicher festgestellte Thatsache. Die von Gunning[1]) gegen die Anaërobiose erhobenen Bedenken wegen des angeblich nicht luftdichten Verschlusses, sowie der mangelhaften Empfindlichkeit der angewandten Reagentien auf freien Sauerstoff in Pasteur'schen und meinen Apparaten haben sich nicht stichhaltig erwiesen. Ich habe gemeinschaftlich mit Dr. Lachowicz[2]) im Widerspruch zu den Angaben Gunning's constatirt, dass in sauerstofffreien Räumen, in welchen jeder Kautschukverschluss vermieden wurde und in welchen das von Gunning als das empfindlichste Reagens auf freien Sauerstoff empfohlene weisse Ferroferrocyanür (Fe_2 [$FeCy_6$]) gar nicht gebläut wird, sowohl Fäulniss wie alkoholische Gährung stattfindet. Seither wird die Möglichkeit des Lebens ohne freien Sauerstoff auch von den früheren Gegnern derselben offen oder stillschweigend zugestanden. Dagegen scheint es mir, dass die Bedeutung dieser Thatsache in den Gährungsprocessen von den modernen Bacteriologen nicht richtig gewürdigt oder geradezu missverstanden wird. So schreibt z. B. Dr. Ferdinand Hueppe (Die Methoden der Bacterienforschung. 3. Aufl., S. 194) Folgendes: „Es ist zu ermitteln, ob die Anaërobiose die Ursache der Zersetzung ist (Pasteur) oder ob dieselbe für den Verlauf der Zersetzung eine mehr nebensächliche Bedeutung hat, wie mir die ganze Frage unter Anerkennung der Thatsache der Anaërobiose deshalb zu liegen scheint, weil fast

---

[1]) Journ. prakt. Chem. **16**, 314 und **19**, 434.

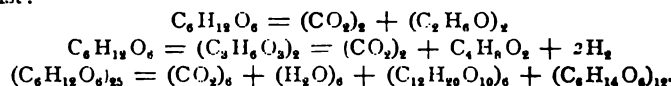
[2]) Pflüger's Arch. **33**, 1 (1883). — Nencki's Opera omnia **1**, 734.

alle bis jetzt bekannten und genauer untersuchten, der Anaërobiose fähigen Mik organismen, Bacterien, Hefen, einige Schimmelpilze, bei sonst durchaus gleich günstig Bedingungen ihre Wirkungen intensiver ausüben, wenn ihnen Luftsauerstoff, we auch im beschränkten Maasse, zugeführt wird, als wenn sie nur auf den chemis gebundenen Sauerstoff von Kohlehydraten angewiesen sind."

Also im Gegensatze zu der Pasteur'schen Theorie, wonach z. B. die He zellen nicht atmosphärischen, sondern den im Zuckermolekül an Kohlenstoff chemis gebundenen Sauerstoff verbrauchen, sie das Zuckermolekül nicht zu CO_2 und H_2 sondern zu CO_2 und C_2H_6O verbrennen und also der Umstand, dass die Hefe nic den Luftsauerstoff dabei verbraucht, die Ursache der Alkoholbildung aus Zucl ist, hält Hueppe es für wahrscheinlicher, dass das Leben der Hefe ohne atm sphärischen Sauerstoff nicht die Ursache der Zersetzung des Zuckers in Kohlensäu und Alkohol ist, sondern eine mehr nebensächliche Bedeutung habe.

Nach meinem Dafürhalten ist die Auffassung, welcher Hueppe den Vorz giebt, eine irrige.

In den Bemerkungen zu den Versuchen „Ueber die Anaërobiosefrage" habe ich durch einfache Berechnungen gezeigt, dass die Annahme, wonach die in unse Apparaten nicht mehr nachweisbaren Spuren des etwa noch vorhandenen Sau stoffs irgend einen Antheil an der Vermehrung der Pilze, deren Stoffwechsel u Oxydationsproducten hätten, einfach eine Absurdität ist. Unter voller Anerkennu der Gährungstheorie des genialen französischen Forschers habe ich dann an einzeln concreten Beispielen gezeigt, dass die Anaërobiose die causa efficiens der verschieden aber durch ein gemeinschaftliches Merkmal gekennzeichneten Gährungen ist. W eben die die Gährung bewirkenden Organismen den Sauerstoff nicht aus der Lu sondern aus der Nährsubstanz selbst entnehmen, so kann bei den echten anaërobio schen Gährungen die Oxydation der organischen Bestandtheile der Nährlösung i eine vollständige sein und deshalb treten neben dem Endproduct der Oxydation der Kohlensäure — stets auch Reductionsproducte auf. Im Thierkörper wird z. der als Nahrung aufgenommene Zucker zu CO_2 und H_2O nach der Gleichun $C_6H_{12}O_6 + O_{12} = (CO_2)_6 + (H_2O)_6$ oxydirt. Hefezellen, welche keinen atm sphärischen Sauerstoff aufnehmen, verbrennen ebenfalls den Zucker zu CO_2, ab durchaus nicht so vollständig wie die thierischen Zellen. Der Zucker wird hier na der Gleichung $C_6H_{12}O_6 = (CO_2)_2 + (C_2H_6O)_2$ verbrannt. Nach gleichem Mod verläuft die Verbrennung der Glucose durch die anaëroben Spaltpilze bei der Butte säuregährung oder bei der schleimigen Gährung, wie aus folgenden Gleichung ersichtlich ist:

$$C_6H_{12}O_6 = (CO_2)_2 + (C_2H_6O)_2$$
$$C_6H_{12}O_6 = (C_3H_6O_3)_2 = (CO_2)_2 + C_4H_8O_2 + 2H_2$$
$$(C_6H_{12}O_6)_{25} = (CO_2)_6 + (H_2O)_6 + (C_{12}H_{20}O_{10})_6 + (C_6H_{14}O_6)_{12}.$$

Diese Gleichungen sollen nur ausdrücken, dass bei den Gährungen stets eine seits Kohlensäure, andererseits Reductionsproducte auftreten. Sie sind keine Um setzungsgleichungen im rein chemischen Sinne; denn, wie Pasteur gezeigt h wird dabei immer ein kleinerer oder grösserer Theil der Nährsubstanz zur N

[1]) Pflüger's Arch. **33**, 9. — Nencki's Opera omnia **1**, 740.

bildung der Pilzzellen und ihrer sonstigen Stoffwechselproducte verwendet. So ist das bei der schleimigen Gährung als Spaltungsproduct aufgeführte Gummi, wie Nägeli[1]) richtig bemerkt, kein Gährungsproduct, sondern die sehr weichen und schleimigen Membranen der die Mannitgährung bewirkenden Spaltpilze.

Aehnlich wie die zuerst aus Zucker entstandene Milchsäure werden auch die Pflanzensäuren, z. B. die Citronensäure, Weinsäure, Aepfelsäure, Schleimsäure u. s. w., welche der sogenannten „Buttersäuregährung“ fähig sind, bei fehlendem Sauerstoff durch die Spaltpilze zu CO_2 oxydirt, wobei andererseits Desoxydationsproducte, wie Buttersäure und Wasserstoff, entstehen. Die Zersetzung der Cellulose, wo neben Kohlensäure Wasserstoff, Grubengas, Aethylaldehyd und flüchtige Fettsäuren auftreten, die Gährung des Glycerins, das einerseits in Kohlensäure, andererseits in eine ganze Reihe Reductionsproducte, wie Trimethylenglycol, Aethyl- und Butylalkohol, Buttersäure, Capronsäure und Wasserstoff, gespalten wird, sowie die Fäulniss der Proteïnsubstanzen, alle diese Gährungen gehören in die gleiche Kategorie.

Während also in thierischen Organismen, welche atmosphärischen Sauerstoff aufnehmen, die Oxydation der organischen Materie eine nahezu vollständige ist, sehen wir bei den Gährung bewirkenden Organismen, welche den Sauerstoff nicht aus der Luft, sondern aus der Nährsubstanz selbst entnehmen, dass neben der Kohlensäure stets Desoxydationsproducte auftreten. Die Oxydation bei der Anaërobiose ist nie eine vollständige und in diesem Sinne nannte ich Gährung ein unvollkommenes Athmen. Sind also die Gährungsproducte durch irgend eine Pilzart bekannt und finden sich neben Kohlensäure Reductionsproducte darunter, d. h. solche Substanzen, welche im Verhältniss zur vergährenden Substanz mehr Wasserstoff und weniger Sauerstoff enthalten, so kann von vornherein angenommen werden, dass die betreffende Pilzart anaërobiotisch ist. Betonen will ich aber, dass damit durchaus nicht präjudicirt ist, dass die gleiche Pilzart unter anderen Umständen nicht auch aërobiotisch sein kann. Systematische Untersuchungen an gut charakterisirten Pilzspecies unter verschiedenen biologischen Verhältnissen sind bis jetzt zu wenige bekannt, um hierüber etwas Bestimmtes sagen zu können. Die Frage, ob es ausser den „facultativ“ anaërobiotischen auch sogenannte „obligat“ anaërobiotische Mikroorganismen giebt, welche letztere also durch den Luftsauerstoff geradezu getödtet werden würden, betrachte ich als eine offene. Das letztere erscheint mir kaum wahrscheinlich, denn das, was wir aus den Untersuchungen Pasteur's über eine exquisit anaërobiotische Pilzart, nämlich die alkoholische Hefe, wissen, spricht nicht allein dafür, dass die Hefe unter Absorption des atmosphärischen Sauerstoffs lebt und sogar besser wächst und sich vermehrt, sondern Hefezellen, welche bei absolutem Sauerstoffausschluss wachsen und Gährung bewirken sollen, müssen eine Zeit lang der Luft exponirt werden, um hernach gährtüchtig zu sein. Die hierauf bezüglichen Versuche Pasteur's sind von grossem Interesse. Das Ergebniss derselben resumirt er in folgenden Worten [2]): „pour se

[1]) Journ. prakt. Chem. 17, 409.

[2]) Etudes sur la bière, p. 239.

multiplier dans un milieu fermentescible, hors de toute présence du gaz oxy[
les cellules de levûre doivent être extrêmement jeunes, pleines de vie et de santé, e[
sous l'influence de l'activité vitale qu'elles doivent à l'oxygène libre qui a servi [
former, et que peut-être elles ont emmagasiné pour un temps. Plus vieilles, [
ont beaucoup de peine à se reproduire sans air et elles vieillissent de plus en [
si elles se multiplient, c'est sous une forme bizarre et monstrueuse. Plus vi[
encore, elles restent absolument inertes dans un milieu dépourvu d'oxygène [
Ce n'est pas qu'elles soient mortes; en général, elles peuvent se rajeunir merveill[
ment bien dans ce même liquide, si on les y sème après l'avoir aéré". Diese T[
sache erkläre ich mir in der Weise, dass in der Leibessubstanz der Hefezelle Mat[
enthalten sind, zu deren Bildung der Luftsauerstoff nothwendig ist. Nach läng[
anaërobiotischen Leben, wobei die Hefezellen sich auch vermehren, wird [
Materie derart verbraucht und an die Tochterzellen vertheilt, dass ein ferneres a[
robiotisches Leben der Zelle nicht mehr möglich ist. Die Zellen verlieren [
weiche Consistenz, die Zellmembran wie auch das Protoplasma wird dichter [
granulirt. In einer vor Kurzem erschienenen Abhandlung hat O. Loew[1]) die [
muthung ausgesprochen, dass in einer gährtüchtigen Pilzzelle zwei Arten von Pr[
plasma existiren. Die eine Protoplasmaabtheilung besorgt die gewöhnlichen [
gänge, wie Zellwandbildung, Wachsthum, Theilung, während die andere ledi[
Gährwirkung ausübt. Diese Annahme stützt er auf die Analogie mit der gr[
Pflanzenzelle, welche auch zweierlei ganz verschieden functionirende Protoplas[
apparate besitzt: das grüne, Kohlensäure reducirende, sogenannte Chlorophyll[
und das farblose Protoplasma, welches in der Regel noch weiter differenzirt ist, [
einen Zellkern besitzt und die gewöhnlichen Zellfunctionen besorgt; ferner auf [
Beobachtung von Nägeli und Fitz, welche fanden, dass man durch Erwär[
auf eine bestimmte Temperatur den Spaltpilzen die Gährthätigkeit nehmen k[
ohne das Leben und die Fortpflanzungsfähigkeit zu vernichten. Sollte sich d[
Annahme Loew's bestätigen, so wäre es denkbar, dass zur Bildung des einen [
des anderen Protoplasmas eine zeitweise Zufuhr des atmosphärischen Sauers[
nothwendig ist. Für die Hefezelle, ähnlich wie für die thierischen Organismen, [
der Zucker viel mehr respiratorischen als plastischen Werth. Sie verbrennt [
unter Wärmebildung zum grössten Theil zu CO_2 und C_2H_6O und nur etwa 1 P[
wird zur Neubildung der Zellsubstanz verwendet. Anders ist es bei der sogenan[
schleimigen Gährung. Hier wird ein grosser Theil des Zuckers (45.5 Proc.) [
Bildung der Zellmembran und des Spaltpilzschleims verbraucht.

Aber gerade die an der citirten Stelle angeführten Versuche Pasteur's zei[
dass die Hefe dann den Zucker in Alkohol und Kohlensäure zersetzt, wenn [
anaërobiotisch lebt. In dünnen Schichten in Bierwürze der Luft exponirt, lebt [
Hefe nach Art der Schimmelpilze und das Verhältniss des zersetzten Zuckers [
neugebildeten Hefe war wie 4:1. Anaërobiotisch lebende Hefe zersetzte dage[
44 mal mehr Zucker, nämlich das Verhältniss des zersetzten Zuckers zur neu[
bildeten Hefe war = 176:1. Uebermässige Sauerstoffzufuhr schwächt die Gä[

[1]) Ueber Formaldehyd. Leipzig 1886, S. 32.

thätigkeit der Hefezellen ab und kann sie sogar gänzlich aufheben. Nach den Versuchen Cochin's[1]) vermochte Hefe, welche während 24 Stunden bei 20° in dünner Schicht der Luft exponirt war, aus 100 Theilen Zucker nur 21 Theile statt 50 Theile Alkohol zu bilden. Als Hoppe-Seyler[2]) durch eine Rohrzuckerlösung, welche in 100 ccm 15 g Rohrzucker enthielt und mit 1 ccm Hefebrei versetzt war, Sauerstoff 4 Tage lang hindurchleitete, wurden nur etwa 50 ccm von dem letzteren absorbirt. Der Rohrzucker war völlig invertirt, aber es wurden nur Spuren von Alkohol gebildet und das Gewicht des bei der Verdampfung des filtrirten Rückstandes in der Retorte bleibenden Syrups war noch etwas grösser, als das Gewicht des zum Versuche benutzten Rohrzuckers. Im Grunde genommen ist der Unterschied zwischen der Oxydation mittelst des Sauerstoffs aus dem Zuckermolekül wie in der Hefezelle und der Oxydation mittelst des molekularen Sauerstoffs in der thierischen Zelle nur ein gradueller. Vielleicht müssen die in der thierischen Zelle entstehenden reducirenden Moleküle eine viel stärkere Affinität zum Sauerstoff haben, als wie dies in der anaërobiotischen Hefezelle nöthig ist. Den thierischen Geweben wird der Sauerstoff mittelst des Hämoglobins als Molekül $=O_2$ zugeführt. Wir haben durch eine Reihe von Versuchen gezeigt[3]), dass von den Bestandtheilen des Thierkörpers in schwach alkalischer Lösung bei der Bruttemperatur nur zwei, nämlich die Dextrose und die Harnsäure, einigermaassen merkliche Quantitäten molekularen Sauerstoffs absorbiren — Dextrose 14.7 Proc., die Harnsäure 9 Proc. ihres Gewichtes — und die Verbrennung auch dieser Substanzen ist durch den molekularen Sauerstoff keine vollständige. Wir haben ferner gezeigt, dass damit die Oxydationen in den thierischen Organismen sich vollziehen, in den Geweben Materien mit starker Affinität zu Sauerstoff gebildet werden müssen, ähnlich wie z. B. Benzaldehyd, der schon durch molekularen Sauerstoff oxydirt wird, wobei gleichzeitig atomistischer Sauerstoff entsteht, der dann die übrigen, im Zellinhalt vorhandenen, durch molekularen Sauerstoff nicht verbrennbaren Substanzen ebenfalls oxydirt. O. Nasse hat deshalb vor Kurzem für diese durch die reducirenden, autooxydablen Moleküle zu Stande kommende Verbrennung in den Geweben den Namen „primäre Oxydation" und für die Oxydation der nur durch atomistischen Sauerstoff verbrennbaren Substanzen, wie z. B. der Fette, des Alkohols, der aromatischen Kohlenwasserstoffe u. s. w., den Namen „secundäre Oxydation" vorgeschlagen. Diesen Bezeichnungen, weil sie leichtere Verständigung ermöglichen, stimme ich vollständig bei. Allem Anscheine nach wird das Eiweiss der Nahrung behufs der Verbrennung im Organismus zunächst in solche labile Moleküle verwandelt und dies ist der Grund für die von Voit und Bischoff gefundene Thatsache, dass die Ausscheidung des Stickstoffs, den wir ja fast nur in Form von Eiweiss in der Nahrung erhalten, nicht von der Muskelthätigkeit, sondern von der Eiweisszufuhr abhängig ist. Das Nahrungseiweiss wird in die labilen, durch molekularen Sauerstoff oxydablen Moleküle verwandelt, und da den Geweben durch das Blut mehr als hinreichend O_2 zugeführt

---

[1]) Compt. rend. **96**, 855 (1883).

[2]) Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen. S. 9. Strassburg 1882.

[3]) M. Nencki und N. Sieber, Untersuchungen über die physiologische Oxydation. Journ. prakt. Chem. **26**, 1 (1882). — Nencki's Opera omnia **1**, 643.

wird, so müssen diese Moleküle im Organismus oxydirt werden. Die Grösse der primären Oxydation ist der Menge des Nahrungseiweisses einfach proportional.

Die Affinität der reducirenden Materie im Protoplasma zu molekularem Sauerstoff muss eine grosse sein, wenn man bedenkt, dass z. B. nach den Versuchen von Troost und Hautfeuille[1]) Sauerstoff $= O_2$ erst über 1400° erhitzt in seine Atome gespalten wird, indem er dann Ozonreactionen zeigt. Aus den bekannten Versuchen von O. Meyer, sowie J. M. Crafts und E. Meyer[2]) über die abnorme Dampfdichte der Halogene geht hervor, dass die Temperatur, bei welcher die Halogenmoleküle J_2, Br_2, Cl_2 in ihre Atome zerfallen, eine ebenso hohe — 1280 bis 1500° — ist. Bei Gegenwart anderer Elemente geschieht die Spaltung des O_2 schon bei viel niedrigerer Temperatur. So geben nach Gautier[3]) Gemische von $O_2 + H_2$ bei einer der Rothgluth nahen Temperatur neben unverändertem H_2 und O_2 auch H_2O. Wer sich vergegenwärtigt, eine wie starke chemische Affinität dazu gehört, um das Sauerstoffmolekül in Atome zu spalten, denn nur so kann die Oxydation in den thierischen Geweben geschehen, für den wird die Vorstellung, dass die Hefezelle den Sauerstoff im Zuckermolekül derart verschiebt, um einen Theil des Kohlenstoffs desselben unter Wärmebildung zu CO_2 zu oxydiren, nichts Befremdendes mehr haben.

Ob bei den anaërobiotischen Gährungen einzig und allein der Sauerstoff der vergährenden Substanz zur Oxydation eines Theiles des Kohlenstoffs zu Kohlensäure verwendet wird, oder ob die Gährung bewirkenden Organismen unter Umständen auch anders chemisch gebundenen Sauerstoff, beziehentlich aus dem Wasser zur Oxydation verwenden, betrachte ich als eine ebenfalls noch nicht entschiedene Frage. Gestützt darauf, dass ich bei der Einwirkung von Alkalien auf Eiweissstoffe, speciell beim Schmelzen von Eiweiss mit Kali, fast alle die früher von mir bei der Eiweissfäulniss isolirten Producte auch bei der Kalischmelze erhalten konnte[4]), und mit Rücksicht darauf, dass schmelzendes Kali bei der Einwirkung auf organische Substanzen dieselben dadurch zerlegt, dass es in $KO + H$ zerfällt, glaubte ich annehmen zu können, dass bei der anaërobiotischen Fäulniss der Proteïnsubstanzen die Mikroben das Wassermolekül in Wasserstoff und Hydroxyl spalten und so mittelst des letzteren die Oxydation bei der Fäulniss geschieht. Diese Auffassung des chemischen Mechanismus der Fäulniss ist nicht von der Hand zu weisen, aber bewiesen ist sie nicht. Entscheidung hierüber wird auch kaum durch einen gut durchgeführten Gährversuch bei Luftausschluss mit einer bestimmten Eiweisssubstanz und mittelst einer einzigen Spaltpilzspecies erbracht; es wäre dazu auch die Kenntniss des molekularen Baues des Eiweissmoleküls erforderlich.

Die chemischen Verbindungen, welche vorzugsweise gährungsfähig sind, sind die mehratomigen Alkohole, die Kohlehydrate und die Oxysäuren. Je mehr ein Körper Hydroxyle enthält, um so geeigneter ist er im Allgemeinen für die Gährung, und dies ist der hydroxylische Sauerstoff, welcher zur Oxydation bei der Anaërobiose

---

[1]) Compt. rend. **84**, 946.
[2]) Vgl. Fittica's Jahresbericht d. Chem. 1879, 1880 u. 1881.
[3]) Ber. **2**, 750.
[4]) Journ. prakt. Chem. **17**, 97 u. 105 (1878). — Nencki's Opera omnia **1**, 370 u. 376.

verwendet wird. Von hohem Interesse ist es, dass dabei nicht der Wasserstoff, sondern stets der Kohlenstoff oxydirt wird. Bei den anaërobiotischen Gährungen entsteht neben CO_2 nicht etwa H_2O, sondern der Wasserstoff tritt entweder als solcher auf, oder es bilden sich wasserstoffreichere Reductionsproducte.

Als einen zweiten, nicht mit der Anaërobiose im Zusammenhange stehenden chemischen Process habe ich bei den Gährungen die hydrolytischen Spaltungen bezeichnet und sie namentlich in den Fällen, wo sie mittelst der in den Gährungsorganismen gebildeten löslichen Enzyme geschehen, mit der Verdauung der Thiere verglichen, während die Bildung der Kohlensäure bei Gährungen den Oxydationen in den Geweben der Thiere entspricht. Ein solches Enzym ist das Invertin der Hefe sowie das von Wortmann[1]) in den Bacterien gefundene stärkelösende Enzym. Allem Anscheine nach geschieht auch die Umwandlung des Zuckers in Milchsäure bei der sogenannten Milchsäuregährung durch das Bacterium lactis ebenfalls mittelst eines Enzyms. Als die einzigen Producte der Milchsäuregährung fand Boutron Milchsäure und Kohlensäure. Dieser Befund wurde in der neuesten Zeit durch eine sorgfältige Untersuchung Hueppe's[2]) bestätigt. Andere Spaltungsproducte ausser den oben bezeichneten hat Hueppe nicht gefunden und sind die bei der Milchsäuregährung gefundenen flüchtigen Fettsäuren u. s. w. auf unreine Culturen zurückzuführen. Nach der günstigsten Methode von Bensch werden bei der technischen Bereitung etwa 60 Proc. Milchsäure von der theoretisch berechneten Menge erhalten. Dass die Milchsäuregährung nicht einfach nach der Gleichung: $C_6H_{12}O_6 = (C_3H_6O_3)_2$ verläuft, geht schon daraus hervor, dass ausser Milchsäure als zweites Spaltungsproduct Kohlensäure auftritt. Hueppe machte aber die interessante Beobachtung, dass ausser dem Bacillus lacticus, des vorzugsweise verbreiteten und wirksamen Milchsäurebildners, es noch andere Mikroben giebt, welche Zucker in Milchsäure verwandeln. Hueppe allein giebt deren fünf an und dies war auch für Dyrmont die Veranlassung, zu untersuchen, ob Milzbrandbacillen in zuckerhaltigen Nährlösungen den letzteren nicht zunächst in Milchsäure spalten. Das Ergebniss war, wie aus nächst folgender Abhandlung ersichtlich, ein negatives.

Enzyme wirken wie verdünnte Säuren oder Alkalien. Von Hoppe-Seyler[3]) rührt die Beobachtung her, dass, wenn Dextrose mit concentrirter Natronlauge auf dem Wasserbade erwärmt wird, bei der dabei stattfindenden heftigen Einwirkung neben wenig Brenzcatechin und anderen nicht definirten Producten 10- bis 20 proc. Gährungsmilchsäure entsteht. Nach den Beobachtungen von Sieber und mir[4]) werden beim Digeriren von Traubenzucker mit Alkalien bei der Bruttemperatur circa 50 Proc. des Zuckers in Milchsäure verwandelt. Die Bildung der Milchsäure geschieht auch bei sehr geringem Alkaligehalt. Als 9 g Traubenzucker, 9 g Kalihydrat in 3 Liter Wasser gelöst, also eine nur 0.3 proc. Lösung, bei 35 bis 40° digerirt wurden, war der Zucker nach 10 Tagen völlig verschwunden. Kohlensaure

[1]) Zeitschrift physiol. Chem. **6**, 318.

[2]) Mittheil. aus d. kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin. 1884, **2**, 342.

[3]) Ber. **6**, 346.

[4]) Journ. prakt. Chem. **24**, 498 u. **26**, 1. — Nencki's Opera omnia **1**, 607 u. 643.

Alkalien oder Ammoniak vermögen aus Dextrose keine Milchsäure zu bilden, wohl aber Ammoniumbasen von der allgemeinen Formel: $R_4.N.OH$. Durch Digestion von Zucker mit Tetramethylammoniumhydroxyd, sowie Cholin in Verdünnungen, wie wir sie oben bei Kalihydrat beschrieben, erhielten wir ebenfalls Milchsäure. Kreatinin sowie Guanidin bilden dagegen aus Zucker keine Milchsäure. Es war naheliegend, auf Grund dieser Beobachtungen nach einem milchsäurebildenden Enzym in dem menschlichen Organismus zu suchen, zumal dessen Auffindung von wesentlichem Werthe für die Erklärung des Diabetes wäre. Unsere damaligen Bemühungen waren ohne Erfolg, auch konnten wir die Annahme Hammarsten's[1]), dass in der Magenschleimhaut ein milchsäurebildendes Enzym enthalten sei, nicht bestätigen. Ich halte es trotzdem für sehr wahrscheinlich, dass die Umwandlung des Zuckers in den Organismen und so auch durch den Bacillus lacticus eine Enzymwirkung ist. Es ist eben nicht nothwendig, dass jedes Enzym durch unsere gewöhnlichen Lösungsmittel aus den Zellen extrahirbar sei; es kann aber auch sein, dass die Umwandlung des Zuckers in Milchsäure nicht mittelst eines extrahirbaren Enzyms, sondern durch die chemischen Umsetzungen in der lebendigen Zelle geschieht. Chemisch ist die Spaltung der Dextrose in Milchsäure ein rein hydrolytischer Process. Das Bacterium lactis ist ein aërobiotischer Pilz. Die Milchsäurebildung durch dasselbe entspricht der Spaltung des Rohrzuckers in Dextrose und Lävulose durch das Invertin der Hefe. Mittelst des atmosphärischen Sauerstoffs verbrennt es andererseits den Zucker, resp. die daraus gebildete Milchsäure zu CO_2 und H_2O.

Wie physiologisch gänzlich verschiedene Processe im gewöhnlichen Sprachgebrauch mit dem gleichen Namen „Gährung“ bezeichnet werden, das zeigt am besten der Vergleich der Alkohol-, der Essig- und der Milchsäuregährung. Bei dem ersten, anaërobiotisch verlaufenden Oxydationsprocesse wird der Zucker mittelst des Sauerstoffs aus dem Zuckermolekül nur theilweise zu CO_2 oxydirt und in Folge dessen entsteht als Reductionsproduct der Alkohol. In einer Nährlösung, welche einige Procente Alkohol enthält, wird durch das aërobiotische Bacterium aceti der Alkohol unter Aufnahme des atmosphärischen Sauerstoffs zu Essigsäure oxydirt. Diese Essiggährung kann aber durch den gleichen Pilz verdorben werden; denn wie Pasteur zeigte, findet die Essigbildung nur so lange statt, als der oxydirte Alkohol durch erneuerten Zusatz ersetzt wird. Ist nämlich kein Alkohol mehr vorhanden, so verbrennt das Bacterium aceti die Essigsäure vollständig zu CO_2 und H_2O. Es ist also nur eine Phase im Stoffwechsel des Pilzes, nämlich die unvollkommene Oxydation des Alkohols, welche wir Essiggährung benennen. Bei der Milchsäuregährung endlich ist es nicht das Reductions- oder das Oxydationsproduct im Stoffwechsel des Pilzes wie in den vorhergehenden Fällen, sondern das hydrolytische, wahrscheinlich durch Enzymwirkung entstandene Product, das zur Bezeichnung des ganzen Processes als „Milchsäuregährung“ Veranlassung gab.

Bern, im April 1886.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. **26**, 40.

Einige Beobachtungen über die Milzbrandbacillen

von

A. Dyrmont.

In.-Diss. Bern. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **21** 309. — Nach dem Referate von Prof. M. Gruber, Maly's Jahresber. **16**, 519.

Verf. verschaffte sich grössere Quantitäten der reincultivirten Bacillen durch Aussaat in Koch'sche Fleischwasserpeptongelatine. Portionen von ca. 500 ccm wurden mit Sporen inficirt und 1 bis 2 Monate lang bei 32 bis 35° gehalten. Nach dieser Zeit erhielt man reine Sporenernte. Sollten sporenfreie Fäden gesammelt werden, dann wurde die Cultur nach 8 bis 14 Tagen unterbrochen. Der Kolbeninhalt wurde durch feine Leinwand filtrirt, der Rückstand mit einem Spatel gesammelt, auf einem Filter mit destillirtem Wasser gewaschen, dann mit ca. 50 bis 60 ccm Wasser in ein Becherglas gespritzt und mit 4 bis 8 Tropfen Salzsäure (1.12 spec. Gewicht) versetzt. Die Sporen ballen sich sofort, die Fäden erst nach Erwärmen auf etwa 30° zu einem flockigen Niederschlag, der abfiltrirt, gewaschen, auf Fliesspapier bis zur Annahme teigartiger Consistenz liegen gelassen, dann mit einem Spatel abgehoben, in tarirten Porcellantiegeln gewogen, bei 110° getrocknet und wieder gewogen wurde. Die getrocknete Masse wurde mit Alkohol, dann mit Aether erschöpft, der Rückstand zur Aschebestimmung und Elementaranalyse verwendet. Der Alkoholextract wurde wieder in einen ätherlöslichen und unlöslichen Theil geschieden. Das Ergebniss der Sporenanalyse ist: Wassergehalt 85.44 Proc., fester Rückstand 14.56 Proc. Von 100 Theilen festen Rückstand: in Alkohol und Aether löslich 8.73 Proc., nur in Alkohol löslich 1.17 Proc., nur in Aether löslich 0.03 Proc., in Alkohol unlösliche anorganische Stoffe 1.15 Proc., C 51.37 Proc., H 7.63 Proc., N 12.44 Proc. der aschefreien, entfetteten Substanz. Unter der Annahme, dass aller Stickstoff in Anthraxproteïn mit 16 Proc. N enthalten ist, ergiebt sich der Eiweissgehalt der entfetteten Sporen mit 77.75 Proc.

Die Milzbrandfäden enthielten 7.1 Proc. organische, in Alkohol und Aether lösliche Stoffe und 6.8 Proc. N unter obiger Voraussetzung = 42.5 Proc. Eiweiss. Das nach Nencki[1]) dargestellte Anthraxproteïn ergab bei den Elementaranalysen folgende Zahlen: 52.1 Proc. C, 6.82 Proc. H und 16.2 Proc. N.

Milzbrandfäden behalten in 0.5 proc. Salzsäure 24 Stunden lang ihre Virulenz, nach dreitägigem Liegen in 1 proc. Salzsäure waren sie unwirksam. Milz und Lunge eines milzbrandigen Kaninchens tödteten nach 48 stündigem Liegen in 0.25-

[1]) Ber. **17**, 2605. — Nencki's Opera omnia **1**, 785.

bis 1 proc. Salzsäure binnen 1 bis 5 Tagen, Milzbrandsporen blieben wäh
24 stündigem Liegen in 0.5- bis 2.0 proc. Salzsäure wirksam.

Milzbrandbacillen sind nicht im Stande, aus Kohlenhydraten Milchsäure bilden. Aus einer achttägigen Cultur in 2 Proc. Gelatine, 2 Proc. käuflic Traubenzucker, 1 Proc. Fleischpepton und Calciumcarbonat konnte nur eine mini Menge Bernsteinsäure gewonnen werden.

Ueber die Rhodaninsäure

von

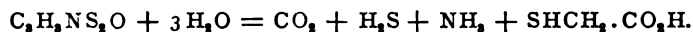
J. Ginsburg und **S. Bondzyński.**

Ber. 19, 113. Eingegangen am 25. Januar; mitge in der Sitzung von Herrn A. Pinner.

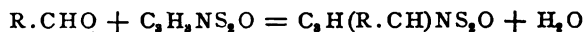
Die in den Berichten **18**, 3242 veröffentlichten Beobachtungen von J. M. Lo über die Synthese einer schwefelsubstituirten Zimmtsäure veranlassen uns, hier die Resultate unserer Untersuchung über die Spaltungsproducte der Rhodanins und ihrer Derivate mitzutheilen.

In seiner Arbeit über die Rhodaninsäure, die von Prof. Nencki in dem J gange 1884, S. 2277 der Berichte (Nencki's Opera omnia **1**, 780) veröffent wurde, gelangte Herr Bourquin zu folgenden Resultaten:

1. Mit Wasser auf 200° in zugeschmolzenem Rohre erhitzt, zerfällt die Rhoda säure in Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Ammoniak und Sulfoglycolsäure:

$$C_3H_3NS_2O + 3H_2O = CO_2 + H_2S + NH_3 + SHCH_2.CO_2H.$$

2. Beim Erwärmen mit Kalilauge wird die Rhodaninsäure in Sulfocyans und eine krystallinische, stickstofffreie Säure gespalten, deren Zusammenset Bourquin nicht genau feststellen konnte.

3. Mit Aldehyden bei Gegenwart wasserentziehender Mittel giebt die Rhoda säure schön krystallisirende Condensationsproducte, deren Entstehung nach allgemeinen Gleichung:

$$R.CHO + C_3H_3NS_2O = C_3H(R.CH)NS_2O + H_2O$$

erfolgt. Näher untersucht wurden nur die aus Aethyl- und Benzaldehyd erhalt Producte.

Auf Wunsch des Herrn Prof. Nencki haben wir diese Untersuchungen w fortgesetzt[1]) und suchten zunächst die Zusammensetzung der auf die Rhodanins durch Einwirkung von Alkalien entstehenden stickstofffreien Säure zu ermitteln

[1]) Der erste Theil dieser Arbeit ist von dem einen von uns (J. Ginsburg), die U suchung der Sulfhydrylzimmtsäure von S. Bondzyński ausgeführt worden. Herr J. Gins hat auch seine Untersuchungen im Jahre 1885 zur Erlangung der Doctorwürde der Un sität zu Bern vorgelegt: „Ueber die Zersetzung der Rhodaninsäure und ihrer Der durch Alkalien und Säuren".

Wir machten dabei die Beobachtung, dass nach dem Erwärmen mit Alkali und Ausziehen des neutralisirten und eingedampften Rückstandes mit Alkohol das Kalisalz der stickstofffreien Säure nur allmählich krystallisirt und bei längerem Stehen, nach erneutem Alkoholzusatz, sich immer neue Mengen des Salzes abscheiden. Ferner sahen wir, dass die freie, in Wasser, Alkohol und Aether sehr leicht lösliche Säure am besten aus heissem Benzol, worin sie nur schwer löslich ist, sich mit geringem Verlust umkrystallisiren lässt. Die auf die Weise rein erhaltene freie Säure krystallisirt in weissen, in Wasser sehr leicht löslichen Blättchen und Prismen, welche bei 100° (uncorrigirt) schmelzen.

Die Elementaranalyse der Säure ergab folgende Zahlen:

	Gefunden:		
	I.	II.	III.
C	26.54 Proc.	26.48 Proc.	— Proc.
H	3.52 „	3.81 „	— „
S	— „	— „	35.55 „

Diese Zahlen entsprechen der empirischen Formel $C_2H_3SO_2$, welche verlangt:

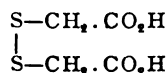
C_2	26.37 Proc.
H_3	3.29 „
S	35.27 „

Aus den Analysen des Kalium- und des Silbersalzes geht aber hervor, dass diese Formel verdoppelt werden muss, d. h. die Säure die Zusammensetzung $C_4H_6S_2O_4$ hat.

Das aus Alkohol mehrfach umkrystallisirte Kalisalz ist ein weisses krystallinisches, in Wasser leicht lösliches Salz, das, über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet, der Formel $C_4H_4K_2O_4S_2 + 1^1/_2 H_2O$ entsprechende Zahlen ergab:

	Gefunden:	Berechnet:
C_4	17.24 Proc.	16.83 Proc.
H_7	2.87 „	2.45 „
K_2	27.46 „	27.26 „

Die wässerige Lösung der Säure giebt mit Silbernitrat einen weissen Niederschlag, der bei 100° getrocknet 37.23 Proc. Ag enthielt. Die Formel $C_4H_5AgS_2O_4$ verlangt 37.5 Proc. Ag. Die Säure ist demnach zweibasisch und, was ihre Constitution betrifft, so unterliegt es keinem Zweifel, dass ihr die Structurformel:

$$\begin{array}{l} S{-}CH_2.CO_2H \\ | \\ S{-}CH_2.CO_2H \end{array}$$

zukommt, weshalb wir sie als Disulfidglycolsäure bezeichnen. Dass die Säure wirklich nach der obigen Formel zusammengesetzt ist, dafür haben wir auf zweierlei Weise den Nachweis geliefert.

1. Durch Ueberführung der Sulfoglycolsäure in die Disulfidglycolsäure und 2. durch Ueberführung der Disulfidglycolsäure durch nascirenden Wasserstoff (Zinn und Salzsäure) in die Sulfoglycolsäure.

Schon in der Arbeit von Claësson[1]) wird bei der Beschreibung des Kalisalzes der Sulfoglycolsäure erwähnt, dass dasselbe an der Luft sich allmählich oxydire.

[1]) Ann. Chem. Pharm. **187**, 113.

Claësson hat jedoch das dabei entstandene Product nicht näher untersucht; wir haben den Versuch von Claësson wiederholt, und gesehen, dass dieses Oxydationsproduct nichts anderes als die Disulfidglycolsäure ist.

Eine wässerige Lösung oder Thioglycolsäure wurde mit concentrirter Kalilauge versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung wird jetzt mit verdünnter Schwefelsäure genau neutralisirt und bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Alkohol digerirt und filtrirt. Aus dem Filtrat krystallisirt beim Erkalten das Kalisalz der Disulfidglycolsäure. Dasselbe wurde abfiltrirt, in möglichst wenig Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und die Flüssigkeit mit Aether extrahirt. Es blieben nach dem Verdunsten des Aethers die für die Disulfidglycolsäure so charakteristischen Krystalle zurück, deren Schmelzpunkt mit dem aus der Rhodaninsäure durch Kalilauge erhaltenen Producte identisch war.

Viel rascher als durch den atmosphärischen Sauerstoff wird die Sulfoglycolsäure durch Eisenchlorid zu Disulfidglycolsäure oxydirt. Auf dieser Oxydation beruht die empfindliche Andreasch'sche Reaction[1]) auf Sulfoglycolsäure. Versetzt man nämlich die Lösung eines thioglycolsauren Salzes, die man etwas angesäuert, oder auch die Lösung der freien Säure selbst mit einem Tropfen sehr verdünntem Eisenchlorid, so bemerkt man nach Andreasch meistens eine sehr schnell vorübergehende indigoblaue Färbung der Flüssigkeit; macht man nur mit einigen Tropfen Ammoniak die Lösung alkalisch, so tritt sofort eine dunkelrothe, ins Violette spielende Färbung auf, die beim Schütteln mit Luft unter Sauerstoffabsorption noch intensiver wird. Setzt man dagegen zu viel Eisenchlorid zu, so fällt beim Uebersättigen mit Ammoniak Eisenoxydhydrat aus, ohne dass eine Farbenveränderung bemerkbar wird.

Nach einigem Stehen verschwindet die Färbung beinahe ganz, kehrt aber beim Schütteln mit Luft wieder zurück. Andreasch meint, dass sich beim Zusatz von Eisenchlorid zur ammoniakalischen Thioglycolsäurelösung möglicherweise das Ammoniumsalz einer Ferridthioglycolsäure

$$Fe(SCH_2.CO.ONH_4)_3$$

bildet, dem eben die rothe Farbe eigen ist und dass unter Oxydation ein Theil der Säure in das farblose Eisenoxydulsalz übergeht, das sich seinerseits unter Aufnahme des Luftsauerstoffs in das Eisenoxydsalz verwandelt. Wir haben nachgewiesen, dass eine Oxydation der Thioglycolsäure durch Eisenchlorid wirklich stattfindet, und dass sie dabei in Disulfidglycolsäure übergeht.

Setzt man zu einer wässerigen Lösung der Thioglycolsäure Eisenchlorid (1 : 16) hinzu, so bemerkt man eine bald vorübergehende grüne Färbung der Flüssigkeit. Diese Färbung, welche wahrscheinlich der Ferridthioglycolsäure eigen ist, verschwindet, sobald eine Oxydation eines Antheils der Thioglycolsäure stattfindet. Nun wurde zu der Lösung Eisenchlorid so lange zugesetzt, bis die Färbung gar nicht mehr eintrat, resp. bis alle Thioglycolsäure zu Disulfidglycolsäure oxydirt wurde.

Uebersättigt man jetzt die Lösung mit Ammoniak, so entsteht im ersten Moment ein Niederschlag von Eisenoxydulhydrat, der sich bald grün und dann braun färbt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, das Filtrat zum Verjagen des überschüssigen

[1]) Ber. **12**, 1390.

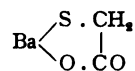
Ammoniaks auf dem Wasserbade eingedampft und wieder filtrirt. Die klare Lösung wird mit Salzsäure übersättigt und durch Aether extrahirt. Beim Verdunsten des Aethers erhielten wir die freie Disulfidglycolsäure.

Die freie Disulfidglycolsäure giebt mit Eisenchlorid keinen Niederschlag und keine Färbung. Bei Zusatz von Ammoniak zu der mit Eisenchlorid versetzten Lösung fällt nur Eisenoxydhydrat aus. Es ist jedenfalls sicher, dass bei hinreichendem Zusatz von Eisenchlorid zu Thioglycolsäure, bis keine Färbung mehr eintritt, als Endproduct der Oxydation die Disulfidglycolsäure entsteht.

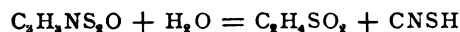
Dieses Verhalten der Thioglycolsäure gegen Eisenchlorid kann, wo es sich darum handelt, zur quantitativen Bestimmung der Thioglycolsäure benutzt werden.

Nascirender Wasserstoff, aus Zinn und Salzsäure, verwandelt die Disulfidglycolsäure, wie es schon erwähnt wurde, in Thioglycolsäure.

1 g der Disulfidglycolsäure wurde mit Zinn und Salzsäure gekocht, bis der grösste Theil des Zinns gelöst wurde, hierauf filtrirt und aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff das Zinn ausgefällt. Das Filtrat von Zinnsulfid wurde auf dem Wasserbade eingedampft, von abgeschiedenem Schwefel und Verunreinigungen von Neuem filtrirt und eingedampft. Es hinterbleibt ein Syrup, der beim Stehen über Schwefelsäure nicht krystallisirte und sowohl durch die Andreasch'sche Reaction, als durch die Darstellung des charakteristischen Barytsalzes

$$Ba\begin{cases} S . CH_2 \\ \quad\;\, | \\ O . CO \end{cases}$$

als Thioglycolsäure erkannt wurde.

Unsere Versuche ergaben also, dass die Rhodaninsäure durch Kalilauge in erster Instanz in der That nach der Gleichung:

$$C_3H_3NS_2O + H_2O = C_2H_4SO_2 + CNSH$$

in Rhodankalium und Thioglycolsäure (resp. ihr Kalisalz) zerfalle und nur die entstandene Thioglycolsäure beim Eindampfen der Lösung ihres Kalisalzes in die Disulfidglycolsäure übergeht, weshalb sie auch Bourquin bei seinen Versuchen nicht hat isoliren können. Es lag daher die Vermuthung nahe, dass, wenn die Sulfoglycolsäure im Momente ihrer Entstehung aus der Rhodaninsäure in eine in Wasser unlösliche Verbindung übergeführt würde, sie dann als solche erhältlich sein müsste.

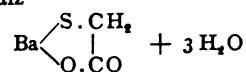
Dieser Zweck ist leicht erreichbar, wenn die Rhodaninsäure statt durch Kalidurch Barythydrat zersetzt wird. Die Rhodaninsäure zerfällt dann glatt in Sulfoglycolsäure und Sulfocyansäure, so dass sogar zur Gewinnung der reinen Sulfoglycolsäure folgendes Verfahren sehr geeignet ist:

10.0 g Rhodaninsäure werden mit der zwanzigfachen Menge einer frisch bereiteten heiss filtrirten, 20proc. Barytlösung versetzt. Die Rhodaninlösung löst sich bald darin auf und nach kurzem Stehen scheidet sich ein krystallinischer Niederschlag ab. Die von den Krystallen abfiltrirte Lauge giebt mit Eisenchlorid eine intensive Rhodanreaction.

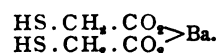
Die Krystalle wurden — da sie in Wasser fast unlöslich sind — mit Wasser, dem etwas Essigsäure zugesetzt ist, wiederholt decantirt und filtrirt.

Claësson[1]) stellte zuerst die Salze der Thioglycolsäure dar und beschreibt in seiner Arbeit zwei Barytsalze:

1. Das basische Baryumsalz

$$Ba\begin{matrix} \diagup S.CH_2 \\ \diagdown O.CO \end{matrix} + 3H_2O$$

ist für die Säure sehr charakteristisch. Es ist in kaltem Wasser beinahe unlöslich, und löst sich auch nur wenig in warmem Wasser.

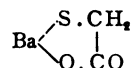
2. Das Baryumsalz der Formel

$$\begin{matrix} HS.CH_2.CO_2 \\ HS.CH_2.CO_2 \end{matrix} > Ba.$$

Die Lösung desselben trocknet bei freiwilliger Verdunstung zu einer gummiähnlichen Masse ein. Es ist in Alkohol unlöslich und wird von letzterem aus der wässerigen Lösung amorph niedergeschlagen.

Das von uns durch Einwirkung von Barythydrat auf Rhodaninsäure erhaltene Baryumsalz stimmt in allen Eigenschaften mit dem von Claësson beschriebenen basischen Salze überein.

Das an der Luft getrocknete Salz ergab 48.67 Proc. Ba.

Die Formel

$$Ba\begin{matrix} \diagup S.CH_2 \\ \diagdown O.CO \end{matrix}$$

verlangt 48.75 Proc.

Indem wir eine andere Portion der Rhodaninsäure mit nur zehnfacher Menge 10proc. Barytlösung versetzten, erhielten wir neben Rhodanwasserstoff eine gummiähnliche Masse, die in Alkohol unlöslich ist.

Dieses Salz wurde nicht analysirt; allein die Eigenschaften desselben sprechen dafür, dass wir es mit dem zweiten Baryumsalze der Thioglycolsäure zu thun hatten.

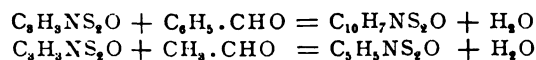
Wird das basische Baryumsalz der Thioglycolsäure mit überschüssiger Salzsäure versetzt und die Lösung mit Aether extrahirt, so erhält man beim Verdunsten des Aethers ein sehr reines Präparat der Thioglycolsäure.

Es ist somit die Spaltung der Rhodaninsäure durch Barythydrat zur Darstellung von Thioglycolsäure sehr geeignet und ein Beweis mehr dafür, wenn es noch dessen bedürfte, dass die Rhodaninsäure nichts anderes als der Sulfocyanäther der Sulfoglycolsäure ist.

Verhalten der aldehydischen Derivate der Rhodaninsäure gegen Säuren und Alkalien.

Gleichzeitig mit den Spaltungsproducten der Rhodaninsäure untersuchte Herr Dr. Bourquin[2]) die Verbindungen dieser Säure mit Aethyl- und Benzaldehyd.

Prof. Nencki formulirte ihre Entstehung nach folgenden Gleichungen:

$$C_3H_3NS_2O + C_6H_5.CHO = C_{10}H_7NS_2O + H_2O$$
$$C_3H_3NS_2O + CH_3.CHO = C_5H_5NS_2O + H_2O$$

[1]) Ann. Chem. Pharm. **187**, 113.

[2]) Ber. l. c.

und gestützt auf die, aus den früher erwähnten Thatsachen für die Rhodaninsäure abgeleitete Structurformel, veranschaulicht er die Constitution dieser aldehydischen Derivate wie folgt:

Die Einwirkung von Säuren, Alkalien und der Oxydationsmittel auf diese Derivate der Rhodaninsäure hat Bourquin nicht näher untersucht. Er erwähnt nur, dass diese Derivate beim Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure neue Producte liefern.

Wir haben die Einwirkung von Schwefelsäure bloss auf Benzylidenrhodaninsäure näher untersucht und gefunden, dass das hierbei entstehende Product am zweckmässigsten auf folgende Weise bereitet wird.

10.0 g Benzylidenrhodaninsäure werden in einem Kölbchen mit der vierfachen Menge reiner concentrirter Schwefelsäure versetzt und das Gemenge im Schwefelsäurebade erhitzt. Bei 110° C. tritt die Reaction ein: die Flüssigkeit schäumt unter starker Entwickelung von schwefliger Säure auf. Eine Probe des Gemenges, bei dieser Temperatur mit Wasser behandelt, giebt einen voluminösen gelben Niederschlag, während das Filtrat farblos bleibt. Man fährt mit dem Erhitzen fort und entnimmt alle 5 Minuten eine Probe.

Der durch Wasser hervorgebrachte Niederschlag wird immer geringer und das Filtrat dunkler. Ist die erhitzte Menge dickflüssig, und giebt eine Probe mit Wasser einen nur ganz unbedeutenden Niederschlag, so ist die Einwirkung beendigt. Nun wird die Flüssigkeit in Wasser gegossen, der Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade stark eingeengt. Es scheiden sich beim längeren Stehen aus dem dunkelgelben, dicken Syrup biegsame Nadeln aus, die aber in Wasser und Alkohol so leicht löslich sind, dass sie von der überschüssigen Schwefelsäure nicht befreit werden konnten, weshalb wir auf die Analyse dieses Productes, das gewiss die freie Säure der unten zu besprechenden Salze ist, bald verzichten mussten.

Nun wurden die Salze dieser Säure dargestellt und zwar so, dass man das Product, welches durch Kochen von Benzylidenrhodaninsäure mit Schwefelsäure erhalten wird, in Wasser giesst und das vom Niederschlage befreite Filtrat mit Kalioder Natronlange oder Ammoniak versetzt, je nachdem man das eine oder das andere Salz zu haben wünscht. Wir erhielten in allen drei Fällen schön krystallisirende Salze, die in überschüssigen Alkalien löslich sind, durch Essigsäure aus der Lösung wieder krystallinisch gefällt werden und nach zwei- bis dreimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser ein homogenes Aussehen hatten.

Alle drei Alkalisalze wurden analysirt.

Stellt man die aus den Analysen der Salze erhaltenen Zahlen zusammen, so ergiebt sich für die neue Säure (resp. ihre Salze) die empirische Formel: $C_{10}H_7NS_2O_6$, wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich.

Natriumsalz.

	Gefunden:			Berechnet:
C	39.35 Proc.	39.22 Proc.	C_{10}	39.09 Proc.
H	2.33 „	2.34 „	H_6	1.95 „
Na	7.06 „	7.19 „	Na	7.49 „
N	4.41 „	— „	N	4.56 „
S	21.31 „	21.78 „	S_2	20.85 „

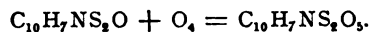
Kalisalz.

K	11.4 Proc.	11.21 Proc.	K	11.17 Proc.
S	19.3 „	— „	S_2	18.76 „

Ammoniumsalz.

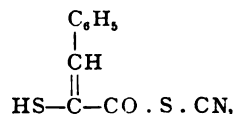
C	39.85 Proc.	C_{10}	39.73 Proc.
H	3.82 „	H_{10}	3.31 „
N	9.37 „	N_2	9.27 „

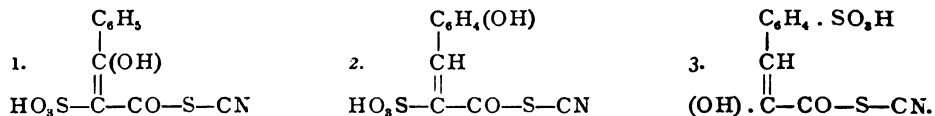
Aus den Analysen geht hervor, dass die neue Substanz ein Oxydationsproduct der Benzylidenrhodaninsäure ist, und zwar aus der letzteren durch Aufnahme von vier Atomen Sauerstoff entstanden:

$$C_{10}H_7NS_2O + O_4 = C_{10}H_7NS_2O_5.$$

Die molekulare Structur der Säure gelang uns nicht mit Sicherheit festzustellen. Die hierauf gerichteten Bemühungen waren nur von geringem Erfolge. Die Substanz ist eine so starke Säure, dass ihre Alkalisalze durch Mineralsäuren nicht zerlegt werden, so dass wir die freie Säure weder analysiren noch ihre weiteren Eigenschaften feststellen konnten.

Durch Salpetersäure erhielten wir aus dem Natriumsalze zwei Nitroproducte der Säure, wobei das Metall noch immer in der Verbindung bleibt und deren Beschreibung weiter unten folgt.

Berücksichtigt man die Structurformel der Benzylidenrhodaninsäure

```
      C6H5
      |
      CH
      ||
HS—C—CO . S . CN,
```

sowie den Umstand, dass die neue Säure aus der ersteren durch Aufnahme von vier Sauerstoffatomen entstanden ist, so erhält man für die neue Säure, welche wir mit dem Namen Benzylidenrhodaninoxysulfonsäure bezeichnen wollen, die folgenden drei möglichen Structurformeln:

```
       C6H5                    C6H4(OH)                  C6H4 . SO3H
       |                       |                         |
1.     C(OH)           2.      CH                 3.     CH
       ||                      ||                        ||
HO3S—C—CO—S—CN         HO3S—C—CO—S—CN            (OH) . C—CO—S—CN.
```

Welche dieser drei Formeln der Benzylidenrhodaninoxysulfonsäure zukommt, lässt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Die Formel (2.) setzt voraus, dass im Benzolkern ein Wasserstoffatom durch Hydroxyl ersetzt worden ist. Eine solche directe Oxydation des Benzolkerns hat im hiesigen Laboratorium Herr Trzciński

beobachtet, als er durch Erhitzen von Benzaldehyd und β-Naphtol mit concentrirter Schwefelsäure ein Derivat des Paraoxybenzaldehyds (die Melinoïntrisulfonsäure) erhielt. Wahrscheinlich scheint uns jedoch, dass die Formel (3.) die richtige ist.

Oben wurde erwähnt, dass beim Kochen des Natriumsalzes der Benzylidenrhodaninoxysulfonsäure mit Salpetersäure zwei Nitroproducte entstehen.

Bei ihrer Darstellung verfuhren wir folgendermaassen: 10.0 g des Natriumsalzes wurden mit der zwanzigfachen Menge Salpetersäure (vom spec. Gew. 1.22) in einem Kölbchen über freier Flamme erhitzt. Das Salz löst sich bald unter reichlicher Entwickelung von salpetriger Säure auf. Man entfernt die Flamme und lässt die Reaction sich ohne Erwärmung vollenden. Hat das Entweichen braunrother Dämpfe aufgehört, so wird die Flüssigkeit in eine Schale ausgegossen und auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingedampft. Es hinterbleibt ein hellgelber Krystallbrei, aus biegsamen Nadeln bestehend, die in Wasser sehr leicht, in Alkohol und Aether schwer löslich sind. Die Krystalle werden mit Aether gewaschen und in heissem absolutem Alkohol gelöst. Beim Erkalten des Alkohols setzen sich an den Wandungen des Gefässes kugelige Gebilde ab, die aus schönen kanariengelben Nadeln bestehen. Dieselben wurden zwei- bis dreimal aus Alkohol umkrystallisirt und über Schwefelsäure getrocknet. Die so getrocknete Substanz verliert beim Erhitzen auf 110 bis 115° C. im Trockenschranke nicht an Gewicht.

Die von den gelben Krystallen abfiltrirte Lauge wurde eingedampft und beim Erkalten erhielten wir aus derselben ein anderes Product, das in schneeweissen Nadeln krystallisirt. Diese Krystalle sind in Alkohol leichter löslich als die oben beschriebenen, dagegen schwerer löslich in Wasser. Sie wurden aus Alkohol umkrystallisirt und über Schwefelsäure getrocknet.

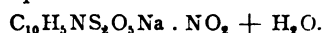
Die beiden Producte wurden analysirt. Die Analysen dieser Körper ergaben, dass — wie es die Zusammensetzung zeigt — beide Mononitroproducte des benzylidenrhodaninoxysulfonsauren Natriums sind, nur unterscheiden sie sich dadurch von einander, dass das weisse Product ein Molekül Wasser [1]) enthält, während das gelbe wasserfrei ist, oder es ist auch möglich, dass es isomere Körper sind.

Das wasserfreie Nitroproduct ergab folgende Zahlen:

$$C_{10}H_5NS_2O_5Na \,.\, NO_2.$$

	Gefunden:	Berechnet:
C	33.70 Proc.	33.78 Proc.
H	2.02 „	1.42 „
N	7.83 „	7.95 „
Na	6.54 „	6.53 „

Das wasserhaltige Nitroproduct:

$$C_{10}H_5NS_2O_5Na \,.\, NO_2 + H_2O.$$

	Gefunden:	Berechnet:
C	32.64 Proc.	32.43 Proc.
H	2.60 „	1.89 „
N	7.53 „	7.57 „
Na	— „	6.22 „

[1]) Direct konnten wir es nicht nachweisen, da die Substanz, auf 100 bis 105° erhitzt, sich zersetzt.

Die Benzylidenrhodaninsäure kann als der Sulfocyanäther der Sulfhydrylzi säure aufgefasst werden. Um von dieser Verbindung nun zu der freien Sulfhy zimmtsäure zu gelangen, sind wir auf folgende Weise verfahren.

10 Thle. Benzylidenrhodaninsäure wurden mit 250 Thln. 20 procentigen I wassers auf dem Wasserbade erwärmt. Nach $1^1/_2$ Stunden geht fast die ; Säure in Lösung über.

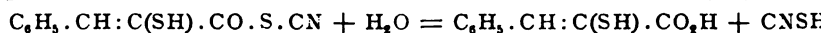
Zu dem klaren Filtrat wurde nun verdünnte Salzsäure zugesetzt, wodurc voluminöser, krystallinischer, gelblicher Niederschlag entstand. In der nun filtrirten Lösung konnte Rhodanwasserstoff nachgewiesen werden. Der neue K löst sich ausserordentlich leicht in Ammoniak und wird aus dieser Lösung (verdünnte Säuren wieder niedergeschlagen.

Auf diesem Wege ist er auch durch mehrmaliges Wiederholen der Ope rein erhalten worden. Die Ausbeute beträgt aus 40 g Benzylidenrhodaninsäure der neuen Verbindung. In reinem Zustande ist dieser Körper von schwach g Farbe und von schwachem, an Zimmt erinnerndem Geruch. In Wasser fast unlö löst er sich leicht in Alkohol, Aether, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Sein Sch punkt liegt bei 119°.

Die Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

	Gefunden:		Berechnet:
	I.	II.	für $C_6H_5.CH:C(SH).CO_2H$
C	59.40	60.12 Proc.	60.00 Proc.
H	4.92	4.83 „	4.44 „
S	17.63	— „	17.22 „

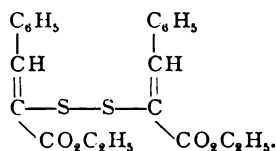
Wie zu erwarten war, ist hier eine Verseifung vor sich gegangen und der Körper ist eine Zimmtsäure, in welcher ein Wasserstoff durch Sulfhydryl erset

$$C_6H_5.CH:C(SH).CO.S.CN + H_2O = C_6H_5.CH:C(SH).CO_2H + CNSH$$

Die alkoholische Lösung dieser Säure wurde mit Jodtinctur, so lange Entfä stattgefunden, versetzt. Nach einigen Augenblicken trübte sich die Lösung (entstandene Krystalle, deren Menge jedoch sehr gering war. Deshalb wurde die Lösung eingedampft und der erhaltene Rückstand aus Benzol umkrystallisir wurden auf diese Weise schöne, gelbliche, lange Nadeln erhalten, sehr leicht l in Alkohol, schwerer in Benzol. Schmelzpunkt 179°.

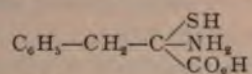
Die Substanz ist jedoch jodfrei. Die Analyse ergab folgende Zahlen:

	Gefunden:		Berechnet:
	I.	II.	für $C_{22}H_{22}S_2O_4$
C	63.71	63.00 Proc.	63.76 Proc.
H	5.35	4.92 „	5.31 „
S	15.72	— „	15.45 „

Diese Zahlen kommen der empirischen Formel $C_{22}H_{22}S_2O_4$ sehr nahe un dem entsprechende rationelle Formel ist wahrscheinlich

```
C6H5          C6H5
|             |
CH            CH
||            ||
C——S——S——C
 \CO2C2H5     \CO2C2H5.
```

Mit anderen Worten: Jodtinctur wirkt hier oxydirend in derselben Weise, wie es oben bei der Thioglycolsäure beschrieben wurde.

Wir sind mit Versuchen beschäftigt, welche eine Addition von Bromwasserstoff an die Sulfhydrylzimmtsäure bezwecken. Gelingt uns dieses, so wird die nächste Aufgabe sein, das Halogen durch Amid zu ersetzen, um so zu einem substituirten Cysteïn

$$C_6H_5-CH_2-C\begin{cases}SH\\NH_2\\CO_2H\end{cases}$$

zu gelangen. Sulfhydrylzimmtsäure, mit einer gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig in zugeschmolzenem Rohre erhitzt, giebt ein neues krystallinisches Product, mit dessen Analysen wir gegenwärtig beschäftigt sind.

Nencki's Laboratorium in Bern.

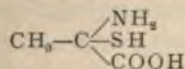
Ueber ein Homologes der Rhodaninsäure

von

J. Berlinerblau.

Ber. **19**, 124. (Eingegangen am 25. Januar; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

Die von Prof. Nencki vor mehreren Jahren entdeckte, so interessante Reaction [1]) von Rhodanammonium auf Monochloressigsäure habe ich aus zwei Gründen mit einer homologen Verbindung, nämlich mit der Methylchloressigsäure oder α-Chlorpropionsäure, gegenwärtig unternommen. Zunächst schien es mir wichtig, zu wissen, ob diese Reaction von allgemeiner Geltung für Monochlorfettsäuren oder ob sie nur charakteristisch für die Monochloressigsäure ist. Im ersteren Falle würde man bei Anwendung der α-Chlorpropionsäure zu der Methylrhodaninsäure, d. h. zu dem Sulfcyanäther der Thiomilchsäure gelangen. Im Besitz dieser Verbindung könnte man alsdann auf irgend eine Weise versuchen, eine Amidogruppe einzuführen, um im Sinne der Baumann'schen Structurformel synthetisch das Cysteïn

$$CH_3-C\begin{cases}NH_2\\SH\\COOH\end{cases}$$

darzustellen.

Die Ausführung dieses Planes mir vorbehaltend, will ich heute nur eine vorläufige Mittheilung über die Einwirkung von Rhodanammonium auf α-Chlorpropionsäure machen.

Das Ausgangsproduct habe ich nach der Vorschrift von Brühl [2]) durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf gewöhnliche Milchsäure erhalten. Das Rohproduct wurde rectificirt und der zwischen 180 bis 190° C. siedende Theil zur Reaction verwendet.

[1]) Journ. prakt. Chem. **16**, 1 (1877). — Nencki's Opera omnia **1**, 275.

[2]) Ber. **9**, 35.

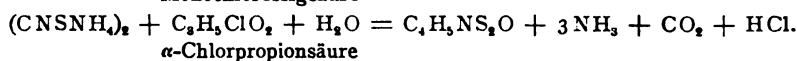
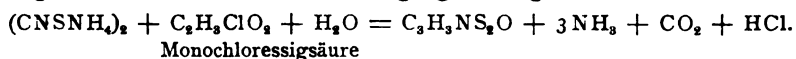
Da ich bis jetzt mit einer nur geringen Menge operirte, so bin ich noch nicht im Stande, das quantitativ günstigste Verhältniss der Agentien anzugeben. Indess steht es sicher, dass beim Zusammenbringen einer concentrirten wässerigen Lösung von Rhodanammonium mit α-Chlorpropionsäure und gelindem Erwärmen alsbald eine lebhafte Reaction eintritt. Das Reactionsproduct wurde mit Wasser versetzt, wobei der neue Körper ungelöst zurückbleibt. Man kann ihn am besten durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser rein erhalten. Aus den Laugen scheidet sich nach mehrtägigem Stehen noch ein weiterer Theil desselben Productes in langen Nadeln aus. Der Körper ist geruchlos und besitzt eine schwach gelbliche Farbe. Schmelzpunkt 123° C. (uncorrigirt).

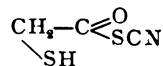
Die Analysen ergaben folgende Zahlen:

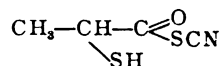
	Gefunden:			Berechnet:
	I.	II.	III.	für $C_4H_5NS_2O$
C	33.08	—	— Proc.	32.65 Proc.
H	4.00	—	— „	3.40 „
N	—	9.55	— „	9.52 „
S	—	—	44.01 „	43.54 „

Hiermit ist festgestellt, dass die Reaction analog wie bei der Monochloressigsäure verläuft. Unter Benutzung der seiner Zeit von Prof. Nencki aufgestellten Reactionsgleichung könnte man auch hier den Vorgang auf folgende Weise formuliren:

$$(CNSNH_4)_2 + C_2H_3ClO_2 + H_2O = C_3H_3NS_2O + 3NH_3 + CO_2 + HCl.$$
Monochloressigsäure

$$(CNSNH_4)_2 + C_3H_5ClO_2 + H_2O = C_4H_5NS_2O + 3NH_3 + CO_2 + HCl.$$
α-Chlorpropionsäure

Die Structurformel der Rhodaninsäure ist laut den von Professor Nencki und seinen Schülern erbrachten Beweisen

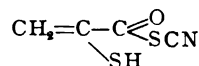
$$CH_2{-}C{<}^{O}_{SCN}\quad \diagdown SH$$

und ich kann wohl aus Analogie annehmen, dass die rationelle Formel der neuen Verbindung:

$$CH_3{-}CH{-}C{<}^{O}_{SCN}\quad \diagdown SH$$

den Sulfcyanäther der Thiomilchsäure repräsentirt.

Ich werde nun zunächst Verseifungsversuche anstellen, um die Identität der hieraus resultirenden Schwefelmilchsäure mit derjenigen von Schacht[1]) aus α-Chlorpropionsäure und von Böttinger[2]) aus Brenztraubensäure erhaltenen zu prüfen.

Die Synthese des Cysteïns habe ich noch auf einem anderen Wege angebahnt, wovon ich auch nur vorläufige Mittheilung machen kann. Ich mache Gebrauch von der von Herrn Bourquin im hiesigen Laboratorium festgestellten Eigenschaft der Rhodaninsäure, mit Aldehyden Condensationsproducte zu liefern, und erwarte, dass ich aus Methylal und Rhodaninsäure zu der Verbindung

$$CH_2{=}C{-}C{<}^{O}_{SCN}\quad \diagdown SH$$

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **129**, 1.

[2]) Ebenda **196**, 103.

gelangen werde. Dieses würde vielleicht nun durch Behandeln zunächst mit Bromwasserstoff und danach mit Ammoniak das Cysteïn geben. Die Reaction zwischen Methylal und Rhodaninsäure erfolgt in der That vermittelst concentrirter Schwefelsäure. Auf Zusatz von Wasser fällt nach beendeter Einwirkung ein öliger Körper nieder, der sich nach einiger Zeit in Krystalle (von auffallend süssem Geschmack) umwandelt.

Mit Untersuchung dieser Verbindung bin ich ebenfalls gegenwärtig beschäftigt.

Bern, den 20. Januar 1886. Prof. Nencki's Laboratorium.

Venöse Hämoglobinkrystalle

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Ber. **19**, 128. (Eingegangen am 25. Januar; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

Bekanntlich sind die aus verschiedenen Blutarten dargestellten Hämoglobinkrystalle Krystalle des arteriellen Blutes, des sogenannten Oxyhämoglobins, die die charakteristischen zwei Absorptionsstreifen im Spectrum zwischen *D* und *E* geben. Ob das venöse Hämoglobin, das im Spectrum nur den einen Absorptionsstreifen zeigt, im krystallinischen Zustande erhältlich sei, ist bis jetzt bezweifelt worden. Wenigstens hat bis jetzt noch Niemand Krystalle des reducirten, venösen Hämoglobins dargestellt und isolirt. Wir haben nun gefunden, dass aus faulendem Blute, auf ähnliche Weise wie das Oxyhämoglobin, leicht auch das venöse Hämoglobin in krystallinischem Zustande in beliebiger Menge erhältlich ist. Folgendes Verfahren hat sich uns bei wiederholten Darstellungen als das zweckmässigste erwiesen: Reine, umkrystallisirte Oxyhämoglobinkrystalle aus Pferdeblut werden in der nöthigen Menge lauwarmen Wassers gelöst, die Lösung mit einigen Cubikcentimetern faulenden Blutes versetzt, sodann in einer Flasche, die mit einem gut schliessenden, doppelt durchbohrten Kautschukpfropfen, durch dessen Bohrungen das Zu- und Ableitungsröhrchen hindurchgehen, durch anhaltenden Wasserstoffstrom von der Luft befreit. Das Zu- und Ableitungsröhrchen werden noch während der Wasserstoffdurchleitung zugeschmolzen und die Flasche bei 20 bis 25° ca. 8 bis 14 Tage stehen gelassen. Nach dieser Zeit ist auch die geringste Spur von Sauerstoff durch die Bacterien verbraucht worden. Die Flüssigkeit zeigt eine schön violettrothe Farbe und enthält nur reducirtes Hämoglobin. Jetzt wird die Lösung auf 0° abgekühlt, die Spitze des Ableitungsröhrchens mit Kautschuk überzogen und das andere Ende des Kautschukschlauches in abgekühlten, absoluten Alkohol eingetaucht, die Flasche durch Einstellen in lauwarmes Wasser gelinde erwärmt, die Spitze im Kautschukschlauch abgebrochen und durch wechselndes Abkühlen und Erwärmen der Flasche so viel Alkohol eingesogen, dass die Lösung ca. 25 Proc. davon enthält. Hierauf wird das untere Ende des Kautschuk-

schlauches mit Klemmschrauben und Glaspfropfen verschlossen, und die Lösung bei 5 bis 10° stehen gelassen. Nach 12 bis 24 Stunden ist das venöse Hämoglobin in schönen, glitzernden Tafeln und Prismen auskrystallisirt. Sofort bei 0° in der Mutterlauge mikroskopirt, erscheinen die Krystalle als grösstentheils sechsseitige Tafeln, von denen manche die Grösse von 2 bis 3 mm erreichen. Im Mikrospectralapparate zeigt jeder Krystall nur den einen Streifen des reducirten Hämoglobins. Die prismatischen Krystalle sind doppelbrechend. Die Farbe der grösseren Tafeln ist eine schön violettrothe, die kleineren, dünnen Täfelchen erscheinen bei durchfallendem Lichte grünlich. Gegen Wärme und Sauerstoff sind die Krystalle äusserst empfindlich. Bei Zimmertemperatur zerfliessen sie rasch und ebenso rasch verlieren sie ihre violette Färbung und zeigen im Mikrospectralapparat die zwei Streifen des Oxyhämoglobins. In absolutem Alkohol halten sie sich, wenigstens was die Form betrifft, unverändert. Wir haben sie in Kohlensäureatmosphäre bei Luftabschluss filtrirt, doch ist uns dabei stets ein Theil in Oxyhämoglobin übergegangen. Wie einerseits die Bacterien das beste Mittel sind zur vollständigen Entfernung des Sauerstoffs, so ist andererseits ein Krystall des venösen Hämoglobins mit das empfindlichste Reagens auf freien Sauerstoff. Hat man die Hämoglobinlösung zu früh mit Alkohol versetzt, noch bevor die Bacterien die letzte Spur von Sauerstoff verzehrt haben, so kann man sicher sein, neben den Krystallen des venösen Hämoglobins auch die des arteriellen zu finden. Ausser durch die Farbe und das spectroskopische Verhalten unterscheiden sich die beiden Hämoglobine des Pferdeblutes auch durch die Form. Wir haben stets das Oxyhämoglobin in langen, vierseitigen Säulen, das venöse Hämoglobin in dünnen, sechsseitigen Tafeln erhalten, auch ist das letztere in Wasser leichter als das arterielle löslich. Wir beabsichtigen, so lange die kalte Jahreszeit anhält, das venöse Hämoglobin anderer Blutarten zu untersuchen. Vielleicht, dass durch Analysen der reinen, venösen Hämoglobinkrystalle sich die Menge des bei ihrer Umwandlung in das Oxyhämoglobin aufgenommenen Sauerstoffs direct wird bestimmen lassen.

Schliesslich bemerken wir, dass einfach aus Pferdeblut, das in gut verschlossenen oder zugeschmolzenen Gefässen gefault ist, durch Zusatz von Alkohol und mehrstündiges Stehen bei Temperaturen unter 0° C. das darin vorhandene venöse Hämoglobin sich als ein dicker Krystallbrei ausscheidet.

Bern, im Januar 1886.

Berichtigung

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Ber. 19, 410. (Eingegangen am 22. Februar; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn. A. Pinner.)

Die Angabe in unserer letzten Mittheilung über das venöse Hämoglobin, dass bis jetzt noch Niemand Krystalle des reducirten venösen Hämoglobins dargestellt und isolirt habe, bedarf einer Berichtigung. Im vierten Bande der Zeitschrift f. phys. Chemie, S. 382, findet sich eine Notiz von Prof. Hüfner in Tübingen „über krystallinisches Hämoglobin", worunter eben venöse Hämoglobinkrystalle gemeint sind. Hüfner theilt mit, dass, als er Menschenblut 1 bis 2 Monate lang in zugeschmolzenen Röhren faulen liess, und das Blut längst eine prachtvolle Purpurfarbe angenommen hatte, er jedesmal an den von der Flüssigkeit nicht bedeckten Stellen der Innenwand der Röhren ganze Lagen purpurrother Krystalle gefunden, die, durch ein kleines Spectroskop betrachtet, sehr schön den charakteristischen Streifen des Hämoglobins (scilic des reducirten) zeigten. Auch hat Hüfner die Krystalle, welche oft über 1 mm lang waren, daselbst abgebildet.

Wir haben seither, ohne die Publication Hüfner's zu kennen, nach der in unserer Mittheilung beschriebenen Methode, aus Menschenblut, das, wie es scheint, besonders gut geeignet ist, venöse Hämoglobinkrystalle dargestellt. Auch diese Krystalle lassen sich in verdünntem Alkohol allem Anscheine nach ohne Veränderung aufbewahren; wenigstens nach zweiwöchentlichem Stehen bei niedriger Temperatur haben sie ihre Krystallform, sowie Löslichkeit in Wasser nicht verloren und bleiben doppelbrechend. Nur die violette Farbe der Krystalle ist etwas bräunlicher geworden, sie zeigen aber im Mikrospectralapparate nur den einen Streifen des venösen Hämoglobins. Um in der Zukunft Verwechselung zu vermeiden, wäre es wünschenswerth, einem früheren Vorschlage Hoppe-Seyler's (dessen Physiologische Chemie S. 374) folgend, die Krystalle des arteriellen Blutes, die Oxyhämoglobine, als Arterine und die des venösen als Phlebine zu bezeichnen.

Ueber das Verhalten des α- und des β-Naphtols im Organismus

von

M. Leśnik und **M. Nencki.**

Ber. **19**, 1534. (Eingegangen am 7. Juni; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.)

Bekanntlich wird das dem Organismus zugeführte Phenol grösstentheils als Phenolätherschwefelsäure, $C_6H_5O.SO_3H$, ausgeschieden. Ein Theil des Phenols wird weiter zu Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt, welche ebenfalls den Thierkörper als Aetherschwefelsäuren verlassen. Wie Schmiedeberg[1]) ferner vor einigen Jahren gezeigt hat, wird ein geringer Theil des dem Organismus zugeführten, oder in ihm entstandenen Phenols auch in Verbindung mit der von ihm entdeckten Glycuronsäure als Phenylglycuronsäure ausgeschieden. Die letztere Säure entsteht hauptsächlich dann, wenn die Menge der disponiblen Schwefelsäure im Thierkörper geringer ist als die des Phenols.

Ueber das Verhalten der beiden Naphtole im Organismus liegen nur bezüglich des β-Naphtols, das gegenwärtig in der Therapie, wenn auch beschränkte Anwendung findet, Angaben von J. Mauthner[2]) vor. Nach seinen Beobachtungen wird das β-Naphtol von Menschen als Aetherschwefelsäure ausgeschieden und kann durch Destillation des Harnes mit verdünnten Mineralsäuren und Ausziehen des Rückstandes mit Aether isolirt werden. Auch das Destillat des Harnes enthält β-Naphtol. Mauthner schliesst aus seinen Versuchen, dass aus dem β-Naphtol kein anderes Derivat im Körper entstehe.

Gelegentlich einer Untersuchung über das Verhalten einiger Säureester der Naphtole im Organismus, über welche später an einem anderen Orte berichtet werden soll, war es uns wünschenswerth zu wissen, wie viel von den eingegebenen Naphtolen resorbirt und durch den Harn ausgeschieden werden. Die Versuche wurden anfangs an einem zu regelmässigem Harnlassen abgerichteten Hunde von 26 kg Körpergewicht, später auch an Menschen angestellt. Die Beobachtung von Mauthner, dass nach β-Naphtol die Aetherschwefelsäuren im Harne bedeutend vermehrt werden, haben wir auch bezüglich des α-Naphtols bestätigt. So enthielt die 24stündige Harnmenge des Hundes = 514 ccm vor der Eingabe von α-Naphtol SO_3 der Salze 2.21 g, SO_3 gepaart 0.1079 g oder im Verhältniss wie 20:1. Nach Eingabe von 3 g α-Naphtol waren in der 24stündigen Harnmenge = 430 ccm SO_3 der Salze 0.3315 g, SO_3 gepaart 0.85 g oder wie 0.39:1.

Bei diesen Versuchen fiel uns jedoch auf, dass selbst nach Dosen von 5 g Naphtol pro die mehrere Tage hinter einander der Harn des Hundes stets noch beträchtliche Mengen von Schwefelsäure in Form von Alkalisalz enthielt und auch

[1]) Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **14**, 307 (1881).

[2]) Maly's Jahresbericht für 1881, S. 230.

bei dem Versuch, das naphtolschwefelsaure Kali aus dem Harne zu isoliren, nur geringe Mengen davon erhalten werden konnten. Da auch das Naphtol als solches nur in minimalen Quantitäten aus den Aetherextracten erhältlich war, so lag die Vermuthung nahe, dass die Naphtole noch in einer anderen Form den Organismus verlassen müssen. Nach einigen Versuchen fanden wir auch sehr bald, dass die Hauptmengen des dem Körper einverleibten α- und β-Naphtols nicht als Aetherschwefelsäuren, sondern als die respectiven Naphtolglycuronsäuren ausgeschieden werden. Die Isolirung dieser Säuren aus dem Harne ist sehr einfach und basirt auf der Unlöslichkeit der Bleisalze der beiden Naphtolglycuronsäuren in Wasser. Der nach Eingabe von α- oder β-Naphtol in den nächsten 30 Stunden gelassene Harn wird mit Bleiessig vollkommen ausgefällt, der entstandene Bleiniederschlag mit kaltem Wasser ausgewaschen, auf Fliesspapier an der Luft getrocknet; sodann mit überschüssiger Salzsäure (spec. Gew. 1.12) zu einem Brei angerührt und mit Aether extrahirt. Die abgehobene ätherische Schicht hinterlässt nach Abdestilliren des Aethers einen syrupösen Rückstand, der nach Eingabe von β-Naphtol durch Zusatz von etwas Wasser in wenigen Minuten zu einem Krystallbrei erstarrt. Die Abscheidung der α-Naphtolglycuronsäure geht etwas langsamer vor sich, doch krystallisirt auch diese Säure nach etwa 24stündigem Stehen ziemlich vollständig aus.

Die abfiltrirten und zwischen Fliesspapier abgepressten Krystalle der β-Naphtolglycuronsäure werden zunächst durch Schütteln mit Chloroform, worin sie nur spurenweise löslich sind, von etwas beigemengtem Naphtol befreit. Durch zwei- bis dreimaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle werden sie dann in farblosen, oft mehrere Centimeter langen Nadeln erhalten. Die lufttrockenen Krystalle sind nach der Formel $C_{16}H_{16}O_7 + 2H_2O$ zusammengesetzt. Bei 100° oder schon nach längerem Liegen über Schwefelsäure verliert die Säure ihr Krystallwasser vollständig. 0.5347 g der lufttrockenen Substanz verloren bei 100° 0.054 g oder 10.10 Proc. und 0.2256 g der bei 100° getrockneten Säure gaben 0.4974 g Kohlensäure und 0.1091 g Wasser oder 60.12 Proc. Kohlenstoff und 5.37 Proc. Wasserstoff. Die Formel $C_{16}H_{16}O_7$ verlangt 60.0 Proc. Kohlenstoff und 5.0 Proc. Wasserstoff.

Die β-Naphtolglycuronsäure ist in kaltem Wasser nur wenig löslich, viel leichter in heissem und wird deshalb mit Vortheil durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt. In Alkohol und Aether ist sie leichter löslich. Durch Mineralsäuren — Salzsäure, verdünnte Schwefelsäure — wird sie in Naphtol und Glycuronsäure gespalten. Sie ist optisch wirksam und linksdrehend. Im Mittel aus mehreren Bestimmungen haben wir den specifischen Drehungswinkel $\alpha = -88°$ gefunden. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 150°. An der Luft werden die farblosen Krystalle allmählich gelb.

Das Calciumsalz ist in Wasser leicht löslich und enthält lufttrocken zwei Moleküle Krystallwasser. Bei 100° bis zu constantem Gewichte getrocknet, verliert es die Hälfte des Krystallwassers. 0.2863 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 100° 0.0140 g an Gewicht, entsprechend 4.88 Proc. Die Formel $C_{16}H_{15}CaO_7 + 2H_2O$ verlangt für den Gewichtsverlust von einem Krystallwasser 4.8 Proc. 0.2723 g des bei 100° getrockneten Kalksalzes enthielten 0.0199 g Calciumoxyd = 5.2 Proc.

Calcium. Die Formel $C_{16}H_{16}CaO_7 + H_2O$ verlangt 5.60 Proc. Calcium. Aehnlich vom Hunde, wird auch vom Menschen das eingenommene β-Naphtol hauptsächlic Verbindung mit Glycuronsäure ausgeschieden. Die aus Menschenharn nach gleic Verfahren erhaltene β-Naphtolglycuronsäure erwies sich als mit der aus dem Hu harn dargestellten identisch.

Die nach Eingabe von α-Naphtol in dem Harn auftretende α-Naphtolglycu säure krystallisirt ebenfalls in langen, farblosen Nadeln. In Wasser ist sie leic löslich als die β-Säure. Sie schmilzt bei 202 bis 203°. Durch Mineralsäuren sie ebenfalls in Glycuronsäure und α-Naphtol gespalten. Die Elementaranalyse bei 100° getrockneten Säure ergab uns folgende Zahlen: 0.2284 g Substanz g 0.503 g Kohlensäure und 0.1094 g Wasser oder 60.06 Proc. Kohlenstoff und 5.32 I Wasserstoff.

Sehr charakteristisch ist das Verhalten dieser Säure gegen concentrirte Schw säure. Wässerige Lösung von α-Naphtolglycuronsäure, mit concentrirter Schw säure versetzt, färbt sich intensiv smaragdgrün. Die Reaction gelingt am beste der Weise, dass man die Lösung der Säure aus einem Reagensröhrchen ausg und zu der im Röhrchen zurückbleibenden Spur Flüssigkeit ungefähr einen Cu centimeter concentrirter Schwefelsäure zufliessen lässt. Die Farbe erscheint beson schön an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeitsschichten. Die Farbe ist n lange beständig und geht allmählich in ein schmutziges Graugrün über. Da Sp der α-Naphtolglycuronsäure auch in Chloroform löslich sind, so wird die Chl formlösung, mit concentrirter Schwefelsäure versetzt, ebenfalls grün. Eine wäss Lösung der β-Naphtolglycuronsäure, in gleicher Weise behandelt, zeigt an Berührungsstelle der beiden Flüssigkeitsschichten schön blaugrüne Färbung. Gle zeitig wird die obere wässerige Schicht milchig. Beim Schütteln der Flüssi färbt sich alles schmutzig grün.

Diese Reaction ist deshalb von Interesse, weil vor Kurzem Prof. Penzol in Erlangen die gleiche Erscheinung am Harn nach Naphtalingebrauch beoba hat. Penzoldt theilt mit, dass schon nach 1 g Naphtalin menschlicher Harn obiger Weise mit concentrirter Schwefelsäure behandelt, sich schön grün f welche Farbe später in ein schmutziges Grau- oder Braungrün übergehe.

Benzol wird im Organismus zu Phenol, und in geringen Mengen zu Br catechin und Hydrochinon oxydirt. Die Erwartung war daher naheliegend, das Naphtalin im Organismus zu Naphtol oxydirt und als α-Naphtolglycurons ausgeschieden werde, welche letztere Säure die Ursache der grünen Färbung Harnes durch concentrirte Schwefelsäure sein müsste. Die Verhältnisse sind je nicht so einfach. Sowohl menschlicher wie Hundeharn nach Eingabe von 3 bi α-Naphtol färbt sich mit concentrirter Schwefelsäure nur vorübergehend, im Mom der Berührung der beiden Flüssigkeiten, grünlich, welche Farbe aber sofort, nan lich beim Schütteln, einer tief violetten Platz macht. Harn nach β-Naphto gleicher Weise behandelt, wird nur braunroth gefärbt. Wir werden das Verh des Naphtalins im Thierkörper genauer untersuchen und hoffen auf Grund

[1]) Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **21**, 34.

mit den Naphtolen gesammelten Erfahrungen die Ausscheidungsformen des Naphtalins ermitteln zu können.

Nach längerem Gebrauch von α- und namentlich β-Naphtol färbt sich der Harn dunkel und sind darin die Naphtolharne den „Carbolharnen" ähnlich. Es unterliegt kaum einem Zweifel, dass ein Theil der eingegebenen Naphtole im Organismus zu Dioxynaphtalinen oxydirt wird, deren Lösungen, so namentlich des α-Dioxynaphtalins, sich an der Luft rasch schwärzen. Die Ausscheidungsformen der Naphtole sind daher die gleichen wie die des Phenols. Der Unterschied besteht wesentlich darin, dass das Phenol hauptsächlich als Aetherschwefelsäure, die Naphtole als Glycuronsäuren ausgeschieden werden.

Bern, im Juni 1886.

Ueber den Einfluss des Antipyrins auf die Stickstoffausscheidung

von

C. Umbach.

Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **21**, 161. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **16**, 418.

Verf. hat das von Knorr durch Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin und nachfolgende Methylirung erhaltene Dimethyloxychinizin oder Antipyrin, $C_{11}H_{12}N_2O$, in Bezug auf den Stoffwechsel an einem Hunde und an sich selbst geprüft. Das Antipyrin giebt selbst in einer Verdünnung von 1 : 100 000 mit Eisenchlorid eine rothe Färbung; diese Färbung giebt auch der Harn sofort nach Einnahme des Mittels. Die Aetherschwefelsäuren werden nach Einnahme von Antipyrin (1 g) beim Menschen nur wenig, beim Hunde dagegen beträchtlich vermehrt, und zwar fiel das Verhältniss der freien zur gepaarten Schwefelsäure im ersteren Falle von 21.60 auf 14.01, im zweiten von 7.99 auf 0.78 resp. 0.87.

Die Stickstoffausscheidung sank bei Einhaltung einer bestimmten Diät nach Einnahme von 4 g Antipyrin an zwei Tagen um ca. 2 g, auf Harnstoff berechnet um 4 g. Eine zweite Versuchsreihe gab damit übereinstimmende Resultate. Die Temperatur ging von normal 37.5 — 37.8° bis auf 36.1° herab. Die Harnsäureausscheidung wurde nicht wesentlich beeinflusst. Es verlangsamt mithin das Antipyrin nicht nur den Stoffwechsel der Respiration, sondern auch den der plastischen Nährmittel. — Anschliessend hat Verf. noch Versuche an sich selbst über die Wirkung des Schwefelcalciums angestellt, von welchem an vier Tagen je 1 g genommen wurde. Es ergab sich:

	Harnsäure in g	Stickstoff in g
Normal (Mittel aus drei Tagen)	0.597	15.335
Nach Schwefelcalciumeinnahme	0.410	16.605
Normal (Mittel aus drei Tagen)	0.632	16.15

Es vermindert daher das Schwefelcalcium die Harnsäureausscheidung, dagegen wird die Gesammtstickstoffausscheidung vermehrt.

Ueber die Bestandtheile des Harnes bei Chylurie

von

B. Lachowicz.

Akademia Umiejętności w Krakowie 13, 304. Referirt von den Herausgebern.

Der Verfasser hat einen Fall von Chylurie der nicht tropischen Form bei einer 54 jährigen, sonst gesunden Frau aus dem Canton Waad in der Schweiz beobachtet. Untersuchte Harnportionen (vom 6., 11. und 20. August 1885) enthielten Eiweiss (0.4 bis 0.5 Proc.), Fett und Cholesterin (0.1 bis 0.6 Proc.) und auch Fibrin. Zucker, Peptone, rothe Blutkörperchen und Filarien wurden nicht gefunden. Der Verfasser ist der Meinung, dass es sich hier um eine Chylus-Blasenfistel gehandelt habe.

1887

Ueber die Blutfarbstoffe

von

M. Nencki.

Aus den Verhandlungen des medicinisch-pharmaceutischen Bezirksvereins von Bern. (Siebente Sitzung, den 25. Januar 1887.) Correspondenz-Blatt für schweiz. Aerzte, **17**.

Während bis vor Kurzem nur der Farbstoff des arteriellen Blutes, das Oxyhämoglobin, im krystallinischen Zustande bekannt war, ist unsere Kenntniss der krystallisirenden Blutfarbstoffe durch die Untersuchungen der letzten Jahre wesentlich erweitert worden. Nach den Beobachtungen von Hüfner und des Vortragenden ist auch das reducirte, venöse Hämoglobin krystallinisch. Lässt man Oxyhämoglobin in verschlossenen Gefässen faulen, so entziehen die Bacterien dem Oxyhämoglobin allen Sauerstoff und aus der prächtig violettrothen, auf 0° abgekühlten Lösung kann durch Zusatz von sauerstofffreiem, abgekühltem Alkohol nach mehrstündigem ruhigem Stehen bei 0° und Sauerstoffausschluss das venöse Hämoglobin in jeder beliebigen Menge in Krystallen erhalten werden. Am besten ist dazu Pferde- und Menschenblut geeignet. Das venöse Hämoglobin ist durch die Farbe, Krystallform und Löslichkeit von dem entsprechenden Oxyhämoglobin verschieden. Venöses Hämoglobin aus Menschenblut ist schwerer löslich als die Oxyverbindung. Umgekehrt ist es bei den Pferdehämoglobinen. Im Mikrospectralapparate zeigt jeder Krystall nur den einen Streifen des venösen Hämoglobins. An der Luft gehen die Krystalle sehr rasch in das Oxyhämoglobin über.

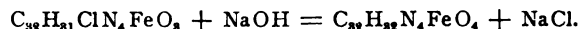
Auch das durch die braunrothe Nuance und einen einzigen Absorptionsstreifen im Roth ausgezeichnete Methämoglobin ist ebenfalls zuerst von Hüfner krystallinisch dargestellt worden. Das Methämoglobin enthält ebenso viel Sauerstoff wie das Oxyhämoglobin, nur ist dieser nicht so locker, sondern fest gebunden. In verdünntem, etwa 50 proc. Alkohol sind die Methämoglobinkrystalle vorzüglich haltbar. Der Vortragende zeigte Methämoglobinkrystalle, die er so seit mehr als einem Jahre aufbewahrt. Die Krystalle haben ihre Löslichkeit in Wasser nicht verloren und zeigen in polarisirtem Lichte sehr schön die Doppelbrechung. Das Methämoglobin

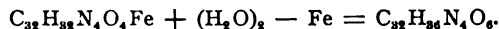
hat auch für den Arzt ein Interesse insofern, als bei Uebergang von gelöstem Blutfarbstoff in den Harn derselbe nicht als Oxy-, sondern als Methämoglobin in dem Harne auftritt. Auch nach Vergiftungen kann in circulirendem Blute Methämoglobin auftreten. So hat kürzlich Dr. Fr. Müller in Berlin („Deutsche medicin. Wochenschrift") in einem Falle von Anilinvergiftung im circulirenden Blute reichlich Methämoglobin gefunden. Nach Antifebrin (Acetanilid) in Dosen von 2 g pro die wird das circulirende Blut methämoglobinhaltig und die auftretende cyanotische Verfärbung um die Augen, an der Nasenspitze, Kinn, Nagelglieder u. s. w. wird von Fr. Müller, wenigstens theilweise, auf den Methämoglobingehalt des Blutes nach Antifebrin bezogen.

Das Kohlenoxydhämoglobin ist, wie bekannt, ebenfalls krystallinisch, dagegen lange nicht so beständig, wie man bisher geglaubt hat. An der Luft, rascher in reiner Sauerstoffatmosphäre, verliert es das Kohlenoxyd vollständig und geht in Oxyhämoglobin über. Das Gleiche findet auch im Organismus statt. Gréhant zeigte, dass mit Kohlenoxydgas vergiftete Thiere quantitativ dieses Gas als solches, und nicht etwa zu Kohlensäure oxydirt, durch die Lunge ausscheiden. So erklärt es sich, dass bei Menschen nach Kohlenoxydvergiftungen nur in den ersten Stunden Kohlenoxydhämoglobin im Blute nachweisbar ist.

Durch Einwirkung von Alkohol auf Oxyhämoglobinkrystalle habe schliesslich der Vortragende eine in Wasser völlig unlösliche Modification erhalten, die die gleiche Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin hat und von ihm mit dem Namen Parahämoglobin bezeichnet wurde.

Durch Einwirkung von Säuren oder Alkalien werden alle Hämoglobine unter Aufnahme von Sauerstoff und Wasser in einen Eiweissstoff — das Globin — und Hämin, resp. Hämatin gespalten. Nach den früheren Untersuchungen des Vortragenden hat das Hämin — die bekannten Teichmann'schen Krystalle — die Zusammensetzung: $C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3$. In Alkalien gelöst, verwandelt sich dasselbe unter Aufnahme von Wasser und Abspaltung von Salzsäure in das Hämatin:

$$C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3 + NaOH = C_{32}H_{32}N_4FeO_4 + NaCl.$$

Die nahe Beziehung des Blutfarbstoffes zu Gallenfarbstoff ist jetzt klar. Durch Abspaltung von Eisen und Aufnahme von zwei Molekülen Wasser gelangen wir von dem Hämatin zu der Formel des Bilirubins:

$$C_{32}H_{32}N_4O_4Fe + (H_2O)_2 - Fe = C_{32}H_{36}N_4O_6.$$

Durch Einwirkung von Bromwasserstoff, in Eisessig gelöst, auf Häminkrystall verlieren die letzteren das Eisen und es entsteht ein in reinem Zustande nicht allein in Alkalien, sondern auch in verdünnten Säuren und Alkohol mit prachtvoll rother Farbe löslicher Farbstoff — das Hämatoporphyrin. — Es gelang dem Vortragenden auch diesen Körper in krystallinischem Zustande zu erhalten. Durch Zusatz von Magnesiumchlorid zu der salzsauren Lösung des Hämatoporphyrins scheiden sich allmählich zu Büscheln vereinigte rothe Krystallnadeln aus, deren Analyse ziemlich genau der Zusammensetzung eines Salzes von der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_4(HCl + H_2O)_2$ entspricht. Doch sind die Untersuchungen hierüber noch nicht abgeschlossen. Nach subcutaner Injection bei Kaninchen geht das Hämatoporphyrin zum Theil unver-

ändert, zum Theil als Urobilin in den Harn über. Auch durch Einwirkung von Jodwasserstoff in Eisessig auf Hämin wird ein Farbstoff mit allen Eigenschaften des Urobilins erhalten. Urobilin wird, wie durch die Arbeit von Professor Maly in Prag bekannt, auch künstlich durch Einwirkung von nascirendem Wasserstoff aus dem Gallenfarbstoff — dem Bilirubin — erhalten.

Während danach die nahe Verwandtschaft zwischen dem Blutfarbstoff und dem Gallenfarbstoff nicht allein durch das physiologische Experiment und klinische Beobachtung, sondern auch durch die chemische Analyse erwiesen ist, erinnert schliesslich der Vortragende daran, dass es keineswegs gerechtfertigt ist, alle Pigmente des Thierkörpers vom Blutfarbstoff ableiten zu wollen. Nach den in seinem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen enthalten die schwarzen Pigmente der Haare und der Choroidea kein Eisen. Das erste ist schwefelhaltig, das zweite enthält keinen Schwefel. Aus einem primär von einem Muttermal ausgehenden melanotischen Sarkom wurde seinerzeit das Phymatorhusin erhalten, das kein Eisen, aber 11 Proc. Schwefel enthält. Will man die Bildung dieses Pigmentes auf Zerstörung rother Blutkörperchen zurückführen, so kann das Phymatorhusin nicht aus dem farbigen Bestandtheil — dem Hämatin —, sondern nur aus dem Eiweiss des Hämoglobins entstehen.

An den interessanten Vortrag schlossen sich Demonstrationen der besprochenen Farbstoffe im Spectroskope und unter dem Mikroskope an.

Weitere Beiträge zur Kenntniss der thierischen Melanine

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **24**, 17.

In Fortsetzung der im XX. Bd. des Arch. f. exper. Path. u. Pharm. S. 346 u. f.[1]) veröffentlichten Untersuchungen über die Farbstoffe der melanotischen Geschwülste haben wir zunächst die aus dem Hippomelanin durch Einwirkung von schmelzendem Kali erhaltene Hippomelaninsäure in reinem Zustande darzustellen versucht. Nach unseren früheren Erfahrungen wird das in Alkalien nur wenig lösliche Hippomelanin durch Schmelzen mit Kalihydrat in ein schwarzes Product von sauren Eigenschaften umgewandelt, das in Alkalien leicht löslich und durch Säuren daraus fällbar ist, weshalb wir eben dieses Product Hippomelaninsäure nannten. Zur Darstellung der Säure wurden 15 g des auf die früher beschriebene Weise gereinigten Hippomelanins in 75 g geschmolzenes Kalihydrat in kleinen Portionen eingetragen, die Schmelze noch etwa $^1/_4$ Stunde lang bei gelinder Wärme in Fluss erhalten, bis eine herausgenommene Probe, in Wasser gebracht, sich grösstentheils löste. Die erkaltete Schmelze wurde mit viel Wasser aufgenommen, kalt filtrirt und mit Salzsäure gefällt,

[1]) Nencki's Opera omnia **1**, 806.

die flockig abgeschiedene Säure abfiltrirt, ausgewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Die Verarbeitung des Filtrates soll weiter unten beschrieben werden.

Die ausgefällte rohe Hippomelaninsäure haben wir behufs weiterer Reinigung in wässerigem Ammoniak in der Kälte gelöst, filtrirt und die ammoniakalische Lösung auf dem Wasserbade verdunstet, das trockene Ammoniaksalz hierauf mit Alkohol und Aether extrahirt, wodurch ein beigemengtes, gelbliches, harziges Product entfernt wurde. Das rückständige Ammoniaksalz wurde nun in Wasser gelöst, filtrirt, mit Salzsäure gefällt, bei 110° getrocknet und analysirt. Das Präparat enthielt Spuren unwägbarer Asche und ergab folgende Zahlen:

1. 0.2127 g der Substanz gaben 0.4669 g CO_2 und 0.0715 g H_2O oder 59.86 Proc. C und 3.73 Proc. H;

2. 0.2457 g der Substanz gaben 0.5414 g CO_2 und 0.0883 g H_2O oder 60.0 Proc. C und 3.99 Proc. H;

3. 0.1951 g der Substanz gaben 18.9 ccm N-Gas bei 19.5° T. und 705 mm Bst. oder 10.41 Proc. N;

4. 0.6328 g der Substanz, mit Kali und Salpeter geschmolzen, gaben 0.1203 g SO_4Ba oder 2.6 Proc. S;

5. 0.6441 g der Substanz gaben 0.1209 g SO_4Ba oder 2.57 Proc. S.

Dieses Product enthielt also mehr Kohlenstoff und weniger Schwefel als das Hippomelanin. Dass wir ein einheitliches, chemisches Individuum analysirten, ist uns jedoch bei der wiederholten Darstellung der Hippomelaninsäure sehr zweifelhaft geworden. Da bei der obigen Darstellung der Säure noch ziemlich viel unverändertes Hippomelanin geblieben war, so haben wir bei wiederholter Darstellung die Schmelze etwas länger erhitzt. 10 g des Hippomelanins wurden mit 50 g Kali eine Stunde lang bei gelinder Temperatur im Fluss erhalten. Die Reinigung der Säure geschah genau wie im vorigen Versuche und das Product war in Bezug auf das Aussehen und die Löslichkeit vom vorigen Präparate nicht zu unterscheiden. Die Elementaranalyse zeigte uns aber, dass die procentische Zusammensetzung der Substanz eine ganz andere geworden ist. 0.2508 g der bei 110° getrockneten Substanz gaben uns 0.5961 g CO_2 und 0.1031 g H_2O oder 64.82 Proc. C und 4.56 Proc. H. Ferner 0.9614 g der Substanz gaben, mit Kali und Salpeter geschmolzen, 0.098 g SO_4Ba oder 1.39 Proc. S.

Der Kohlenstoffgehalt ist also noch höher geworden, während der Schwefelgehalt dieses Präparates nur halb so gross als der des Hippomelanins wurde. Da es uns auch nicht gelang, die Hippomelaninsäure in irgend eine krystallinische Form zu bringen und die zwei äusserlich ganz gleichen Präparate der Säure einen so grossen Unterschied in der procentischen Zusammensetzung zeigten, so war wenig Aussicht vorhanden, auf diesem Wege die empirische Formel der Hippomelaninsäure zu ermitteln. Auf Grund der weiter unten zu beschreibenden Versuche mit dem Sepiafarbstoff halten wir es für sehr wahrscheinlich, dass das in Alkalien sehr wenig lösliche Hippomelanin eine anhydritische Form der Hippomelaninsäure ist, welche letztere also ziemlich die gleiche procentische Zusammensetzung wie das Hippomelanin habe. Durch weitere Hydratation mittelst Alkali, allem Anschein nach unter Abspaltung von Schwefel und Stickstoff als Ammoniak, entstehen weitere,

der Hippomelaninsäure ähnliche schwarze Producte von sauren Eigenschaften, deren Trennung bei der geringen Menge des Materials und ziemlich gleichen Eigenschaften nicht ausführbar war.

Dass je nach der Temperatur und Dauer des Erhitzens nicht allein die Hippomelaninsäuren, sondern auch die weiteren Spaltungsproducte verschieden sein werden, war danach von vornherein zu erwarten. Wir haben in der That nach kurzem Schmelzen mit Kali eine neue, in Aether lösliche, krystallinische, nicht flüchtige Säure erhalten, die wir bei wiederholter Bereitung der Hippomelaninsäure und längerem Schmelzen in den Laugen nicht mehr auffinden konnten.

Die fragliche krystallinische Säure wurde isolirt, als wir nach Ausfällen der Hippomelaninsäure mit Salzsäure das Filtrat behufs Entfernung der flüchtigen Producte destillirten, wobei neben viel Blausäure und Ameisensäure auch höhere Nitrile und flüchtige Fettsäuren übergingen. Der Retortenrückstand wurde mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers hinterblieben wenige Oeltropfen, die, mit etwas Wasser versetzt, sich in rhombische Krystalle verwandelten. Die Krystalle wurden abfiltrirt und mit wenig Aether gewaschen, wobei die Substanz in vollkommen farblosen, wasserhellen Krystallen erhalten wurde. Im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet, wurden die Krystalle matt und zerbröckelt, offenbar durch Verlust des Krystallwassers. Die trockenen Krystalle schmolzen bei 187° unter gleichzeitiger Gasentwickelung und Sublimation. Der Körper ist in Wasser ziemlich leicht löslich, enthält weder Schwefel, noch Stickstoff. Seine wässerige Lösung, mit Ammoniak neutralisirt, färbt sich mit Eisenchlorid nicht und giebt keinen Niederschlag.

Als 10 g des Hippomelanins mit 50 g Kali eine Stunde lang geschmolzen wurden, enthielt die angesäuerte Schmelze sehr viel flüchtige Fettsäuren und deren Nitrile, sowie Schwefelwasserstoff. Der Geruch der angesäuerten Schmelze war höchst widerwärtig, obgleich weder Skatol, noch Indol oder Phenol darin nachgewiesen werden konnten. Aus dem sauren Retortenrückstand wurde durch Extraction mit Aether nicht mehr die gleiche Säure wie im vorigen Versuche erhalten. Die in concentrisch gruppirten Nadeln krystallisirende Substanz gab jetzt nach Neutralisation mit Ammoniak und Zusatz von $Fe_2 Cl_6$ einen rothen Niederschlag und auf Platinblech verbrannt entwickelte sie stark zum Husten reizende Dämpfe. Ob hier wirklich Bernsteinsäure vorlag, können wir bei der minimalen Menge des Productes nicht mit Bestimmtheit behaupten.

Ebenso wenig wie die Hippomelaninsäure gelang es uns, den schwarzen Farbstoff der Rosshaare als ein chemisches Individuum in reinem Zustande zu isoliren. Ein halbes Kilo schwarzer, einem im hiesigen Thierspitale getödteten Pferde entnommener Schweifhaare[1]) wurde so lange mit heissem Wasser und verdünnter Sodalösung gewaschen, bis das ablaufende Wasser klar war. Jetzt wurden die Haare mit dem fünffachen Gewicht 10 proc. Kalilauge bis zur vollständigen Lösung auf dem Wasserbade digerirt, was etwa nach 5 Stunden erfolgte. Die verdünnte Lösung

[1]) Käufliche Rosshaare im Handel sind künstlich gefärbt und eignen sich natürlich zu derartigen Versuchen nicht.

wurde durch Tuch colirt und mit überschüssiger 1 proc. Salzsäure versetzt. Beim Ansäuern entweicht viel Schwefelwasserstoff und der Farbstoff, mit Schwefel und klebrigen Proteïnsubstanzen vermengt, fällt aus. Der entstandene Niederschlag wurde mit Wasser ausgewaschen, dann mit Alkohol, Schwefelkohlenstoff und Aether extrahirt und der Rückstand mit Ammoniak gelöst und mit Salzsäure ausgefällt. Der abgeschiedene Farbstoff wurde nunmehr mit 5 proc. Salzsäure am Rückflusskühler gekocht, etwa 2 bis 3 Stunden, bis die Lösung keine Peptonreaction mehr zeigte. Der Rückstand wurde wiederholt mit Ammoniak gelöst, mit Salzsäure gefällt und auf dem Filter bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen. Das so erhaltene Product ist im trockenen Zustande ein schwarzes, glänzendes Pulver, leicht löslich in fixen und kohlensauren Alkalien, unlöslich in Wasser, verdünnten Mineralsäuren, Alkohol, Aether u. s. w. Zwei Präparate verschiedener Darstellung waren ganz aschefrei, zeigten aber keine constante Zusammensetzung. Die ersten bereits publicirten Analysen[1]) ergaben Zahlen, welche ziemlich nahe der procentischen Zusammensetzung der Hippomelaninsäure stehen, nämlich: 57.6 Proc. C, 4.2 Proc. H, 11.6 Proc. N und 2.1 Proc. S. Bei wiederholter Darstellung des Farbstoffes, und zwar nach ziemlich gleichem Verfahren, erhielten wir ein Product, das namentlich bezüglich des Wasserstoffs und Schwefels ziemlich andere Zusammensetzung als das frühere hatte. Das Präparat wurde bei 110° getrocknet und ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2095 g der Substanz gaben 0.449 g CO_2 und 0.105 g H_2O oder 58.44 Proc. C und 5.55 Proc. H.

0.4298 g mit Kali und Salpeter geschmolzen, gaben 0.1139 g SO_4Ba oder 3.64 Proc. S.

0.2713 g gaben 30.5 ccm N-Gas bei 17° T. und 697 mm Bst. entsprechend 11.9 Proc. N.

0.2011 g gaben 22 ccm N-Gas bei 19.5° T. und 702 mm Bst. oder 11.56 Proc. N.

Bessere Uebereinstimmung erhielten wir bei den Analysen des Melanins aus den Tintenbeuteln der Sepia. Durch Vermittelung des Prof. Maly in Prag hatte Herr Dr. Guido Goldschmidt in Wien die grosse Freundlichkeit, eine grössere Anzahl der Tintenbeutel, die er vor mehreren Jahren in Triest von Fischern hat auslösen lassen, uns zur Verfügung zu stellen. Das Secret des Tintenbeutels ist nach einer von P. Girod[2]) publicirten Analyse folgendermaassen zusammengesetzt:

Wasser		60.0
Mineralsalze	8.613	40.0
Unlösliche organische Stoffe	30.536	
Extractivstoffe	0.851	

Das Sepiamelanin wurde daraus erhalten durch Trocknen des Secretes, Auswaschen mit Alkohol, Aether, warmem Eisessig, Kaliumcarbonat, Kalilauge und 10 proc. Salzsäure. Hierauf wurde das Präparat mit Wasser ausgewaschen, bei 100° getrocknet und analysirt. Die procentische Zusammensetzung des Sepiamelanins

[1]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **20**, 367. — Nencki's Opera omnia **1**, 822.
[2]) Compt. rend. **93**, 96.

früherer Autoren ist in dem Maly'schen Jahresberichte für 1881, S. 375 zusammengestellt und zwar wie folgt:

	Hosaeus	Sepia Desfosses u. Variot	Girod
Kohlenstoff . . .	44.2 Proc.	54.4 Proc.	53.6 und 53.9 Proc.
Wasserstoff . . .	3.3 „	3.05 „	4.04 „ 4.02 „
Stickstoff	9.9 „	8.1 „	8.8 „ 8.6 „

Wir haben die erhaltenen, sammt ihrem Inhalt eingetrockneten Tintenbeutel zunächst in lauwarmem Wasser aufgeweicht und das Gewebe mechanisch und durch Schlämmen von dem spröden Farbstoff getrennt. Aehnlich wie unsere Vorgänger suchten auch wir durch Digestion des Rohproductes mit Säuren und Alkalien den Farbstoff zu reinigen. Dabei fanden wir aber, dass bei längerer Digestion — 5 bis 10 Stunden lang — der feingepulverten Sepia, mit dem 15- bis 20fachen Gewicht 10proc. Kalilauge auf dem Wasserbade, die alkalische Flüssigkeit sich tief schwarz färbte, indem ein grosser Theil des Farbstoffs in Lösung ging, aus welcher Lösung er durch Säure gefällt wurde. Was also beim Hippomelanin erst durch schmelzendes Kali bewirkt wird, liess sich hier schon durch gelindes Erwärmen mit Alkali auf dem Wasserbade erreichen. Wir benutzten daher diesen Umstand, um das in Alkalien leicht lösliche Product von sauren Eigenschaften, das aller Wahrscheinlichkeit nach im gleichen Verhältniss zum Sepiamelanin steht, wie die Hippomelaninsäure zu Hippomelanin, und das man füglich Sepiasäure nennen könnte, zu isoliren und rein darzustellen. Die schwarze alkalische Lösung wurde filtrirt und der Farbstoff durch Salzsäure gefällt. Der in amorphen Flocken abgeschiedene Körper wurde auf dem Filter vollständig ausgewaschen und in wenig verdünntem Ammoniak gelöst. Die ammoniakalische Lösung, auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess den Farbstoff in Form des Ammoniaksalzes, das in schwarzen, glänzenden, amorphen Krusten an der Wand des Gefässes hinterbleibt. Dieses Salz wurde nun mit kaltem Wasser aufgenommen, worin es sich ziemlich leicht löst, filtrirt und mit Salzsäure gefällt. Die abgeschiedene freie Säure wurde mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen, bei 100° getrocknet und analysirt.

0.4017 g der Substanz mit Kali und Salpeter geschmolzen, gaben 0.0157 g SO_4Ba oder 0.52 Proc. S.

0.2179 g der Substanz gaben 0.4504 g CO_2 und 0.0716 g H_2O oder 56.36 Proc. C und 3.65 Proc. H.

0.2649 g der Substanz gaben 25.2 ccm N-Gas bei 13.5° T. und 710 mm Bst. oder 10.44 Proc. N.

0.2406 g der Substanz gaben 22.4 ccm N-Gas bei 12.8° T. und 707 mm Bst. oder 10.21 Proc. N.

Wie man sieht, enthielt dieses Präparat in geringer Menge Schwefel. Um uns zu überzeugen, ob der Schwefel einen wesentlichen Bestandtheil der Sepiasäure ausmacht, haben wir das Product noch einmal auf gleiche Weise dargestellt, mit dem Unterschiede, dass die Substanz jetzt zweimal in Ammoniak aufgelöst, zur Trockne verdunstet und wieder mit kaltem Wasser aufgenommen wurde. Die Elementar-

analyse zeigte aber, dass dieses Präparat die gleiche Zusammensetzung wie das vorige hatte.

0.499 g der Substanz gaben 0.0186 g SO_4Ba oder 0.51 Proc. S. 0.2274 g der Substanz gaben 0.4696 g CO_2 und 0.0729 g H_2O oder 56.31 Proc. C und 3.56 Proc. H.

Nach unseren Analysen hat also die Sepiasäure folgende Zusammensetzung:

C	56.36 Proc.	und	56.31 Proc.
H	3.65 „	„	3.56 „
N	10.44 „	„	10.21 „
S	0.52 „	„	0.51 „
O	29.03 „	„	29.41 „

Die Sepiasäure ist in trockenem Zustande ein schwarzes, stark glänzendes, amorphes Pulver. Unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Eisessig, leicht löslich in Alkalien. Die ammoniakalische Lösung der Sepiasäure wird durch ammoniakalische Chlorzink- oder Kupfervitriollösung vollständig in schwarzbraunen, amorphen Flocken gefällt. Die alkalische Lösung zeigt keine charakteristischen Absorptionsstreifen. Von Salpetersäure wird die Sepiasäure leicht zu einem in Alkalien mit braunrother Farbe sich lösenden amorphen Product oxydirt, das ebenfalls keine Absorptionsstreifen zeigt. Auf Platinblech langsam erhitzt, verkohlt die Sepiasäure, ohne irgend einen charakteristischen Geruch zu entwickeln. Bei weiterem Erhitzen verbrennt die Kohle vollständig, ohne Asche zu hinterlassen.

Dass die menschlichen pathologischen Melanine unter einander nicht identisch sind, haben wir durch seitherige Beobachtungen bestätigen können. Wir erhielten von Prof. Langhans ein Melanosarkom der Leber, aus dem wir kein Phymatorhusin isoliren konnten. Der Fall kam im Cantonsspital in St. Gallen zur Beobachtung. Prof. Langhans hatte die Freundlichkeit, uns folgende Notizen darüber mitzutheilen.

„Der Fall betrifft einen 40jährigen, früher gesunden Mann, der von Dr. Hartmann in St. Gallen behandelt wurde und welcher wegen eines Gefühles von Druck im Abdomen ärztliche Hülfe suchte. Man constatirte einen grossen Lebertumor, der den Rippenbogen um circa 4 Querfinger überragte. Der Mann wurde aufgenommen und zeigte seither wenig neue Symptome. Magenerscheinungen bestanden nie. Ikterus trat erst in den allerletzten Tagen auf. Unter rapider Abnahme der Kräfte wuchs der Tumor zusehends und wölbte die Bauchdecke stark nach aussen vor. Der Tod erfolgte am 15. December 1886. Die Section ergab: Hypostase in den Unterlappen beider Lungen, leichte Herzverfettung, kleine Milz, anämische, sonst normale Nieren, normales Pankreas. Magen, Prostata, Mesenterialdrüsen unverändert, dagegen einen ganz enormen Lebertumor. Der obere Theil des linken Lappens war schwarz und weiss marmorirt, der untere Theil röthlich, der rechte Lappen gelbröthlich. Auf dem Durchschnitt des rechten Lappens zeigten sich spärliche, erbsen- bis kirschgrosse weisse Knoten und einzelne kleine schwarze Flecken; die Zeichnung des übrigen Lappens bot das Bild ausserordentlich grosser Acini mit röthlichem Centrum und gelblicher Peripherie. Auf dem Durchschnitt des

linken Lappens zeigte der obere Theil abwechselnd weissliche und dunkle Partien mit ganz unregelmässigen Contouren. Das Lebergewebe als solches nicht mehr zu erkennen; die untere Hälfte war weniger derb, grobkörnig mit ganz undeutlicher Zeichnung.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass ein melanotisches Sarkom vorliegt, mit klein alveolärem Bau. Diejenigen Partien, welche normalem Lebergewebe glichen, bestanden auch nach der mikroskopischen Untersuchung aus Lebergewebe. Die anderen waren sarkomatös. Aber trotzdem konnte man in ihnen noch die Glisson'schen Scheiden mit den eingeschlossenen Gefässen erkennen, allerdings in weiten Distanzen, wie bei Vergrösserung der Acini. An Stelle des Acinusgewebes finden sich, durch schmale faserige Stromabalken getrennt, kleine, rundliche und längliche Gruppen von dicht zusammengepressten und daher sehr vielgestaltigen Zellen. Sie sind von mässiger Grösse, mit grossem, bläschenförmigem Kern versehen. Letzterer ist ebenfalls sehr vielgestaltig, bald oval oder gebogen, nierenförmig und erheblich grösser wie der der Leberzellen, auch meist viel stärker tingirt. An anderen Stellen findet sich das gleiche Bild, nur sind an Stelle der Glisson'schen Scheiden sehr breite bindegewebige Streifen getreten, welche ein vollständiges Netz bilden und noch die Gallengänge erkennen lassen; sie mögen etwa die Hälfte des ganzen Gesichtsfeldes einnehmen.

Ueber die Entstehung der Geschwulst, namentlich über die Frage, ob die Geschwulstzellen zuerst in den Blutcapillaren auftreten, konnte ich keinen Aufschluss erhalten. Wo neben den Sarkomelementen noch die Leberzellen erhalten waren, schienen mir jene nicht zwischen, sondern an Stelle der letzteren zu liegen. Es fand sich hier schon alveolärer Bau des Sarkoms mit seinen kleinen Zellgruppen vor, aber innerhalb dieser liessen sich neben den grossen dunkeln und vielfach gestalteten Kernen der Geschwulstzellen noch kleinere, runde, helle Kerne erkennen, welche vollständig denen der Leberzellen glichen. Letztere liegen in stark körnigem Protoplasma, das wiederum dem der Leberzellen gleicht, während erstere von hellem Protoplasma umgeben sind.

Was das Pigment anlangt, so findet sich dasselbe sowohl in den Geschwulstzellen, wie auch namentlich im Stroma, so besonders auch in den sehr breiten, netzartig verbundenen, bindegewebigen Septa. Es ist von der gewöhnlichen braunen oder braungelben, hier und da auch leicht grünlichen Farbe, bald grobkörnig, vielfach in Form von Kugeln, die an rothe Blutkörper erinnern; an anderen Stellen mehr gleichmässig feinkörnig und braungelb, ähnlich wie Choroideapigment. Auch hellgelbes Pigment, das bei Zusatz von Schwefelammonium schwarz wird, findet sich vor, entweder deutlich in Leberzellen oder auch, wie es scheint, frei; vielleicht nur durch Zugrundegehen der Leberzellen frei geworden.

Die im Sectionsprotokoll erwähnten weissen Flecke und Knoten bestehen aus Zellen, die völlig den einkernigen Lymphkörpern gleichen, äusserst dicht gelagert. Hier und da sind namentlich an der Peripherie Canäle zu sehen, die mit kleinen runden Coccen (Färbung nach Gram) gefüllt sind. Die wichtige Frage, ob der Tumor primär oder secundär ist, muss vom pathologischen Standpunkte aus mit Wahrscheinlichkeit dahin beantwortet werden, dass eine secundäre Bildung vorliegt.

Dafür spricht besonders das Auftreten in grossen und kleinen Herden, sowie die Seltenheit eines primären Melanosarkoms der Leber. Da an der Haut von den behandelnden Aerzten nichts Verdachterregendes bemerkt wurde, so dürfte der primäre Herd in dem Auge zu suchen sein."

Von diesem Lebertumor erhielten wir 190 g zum Zweck chemischer Untersuchung. Nach völliger Extraction der zerhackten frischen Geschwulst hinterblieben 24 g trockenes, grauweisses Pulver. Wir suchten daraus durch Digestion mit dem 10fachen Gewichte 1 proc. Kalilauge den Farbstoff zu extrahiren. Während aber im früheren Versuche das Phymatorhusin dabei sehr leicht in Lösung ging, ist jetzt so gut wie gar nichts von dem Alkali aufgenommen worden und das Alkali war kaum schwach gelb gefärbt. Wir suchten aus dem Pulver das Eiweiss durch Kochen mit 10 proc. Salzsäure zu entfernen. Dies gelang aber erst nach dreimaliger Wiederholung der Operation, obgleich die zwei ersten Male die Flüssigkeit zwei Stunden lang im Sieden erhalten wurde. Das jetzt hinterbliebene schwarze Pulver wurde durch Kochen mit 5 proc. Kalilauge theilweise in Lösung gebracht. Beim Erkalten der alkalischen Flüssigkeit schied sich jedoch ein Theil des Farbstoffs körnig ab. Phymatorhusin war also der Farbstoff sicher nicht. Phymatorhusin ist in Alkalien sehr leicht mit schön braunrother Farbe löslich, während der letztere Farbstoff nur schwer und mit gelbbrauner Nuance sich löste. Die Schwierigkeit, den Farbstoff vollkommen eiweissfrei zu erhalten, rechtfertigt die Vermuthung, dass hier das Pigment an Eiweiss chemisch gebunden war. Eine Schwefelbestimmung mit der geringen Menge des Farbstoffs ist uns leider verunglückt.

Herr Prof. Langhans hat uns ferner melanosarkomatös entartete Leistendrüsen, von einem anderen Falle herrührend, behufs chemischer Untersuchung übergeben. Da hier wegen der geringen Menge an eine Isolirung des Farbstoffs nicht zu denken war, so wurden die Drüsen klein zerhackt und mit Alkohol und Aether extrahirt. 1.4458 g der entfetteten, bei 110° getrockneten Drüsensubstanz, mit Kali und Salpeter geschmolzen, gaben uns 0.107 g SO_4Ba = 1.02 Proc. S. Der Schwefelgehalt der Eiweissstoffe schwankt zwischen 0.5 bis 1.8 Proc. Wäre der Farbstoff, der in den Drüsen in ziemlicher Menge vorhanden war, Phymatorhusin, so hätte der Schwefelgehalt der Trockensubstanz jedenfalls grösser sein müssen.

Auch der bei Morbus Addisonii in der Haut abgelagerte schwarze Farbstoff scheint wenigstens auf Grund seines Verhaltens gegen Alkalien kein Phymatorhusin zu sein. In einem exquisiten Fall dieser Krankheit hatte Herr Prof. Lichtheim die Güte, die schwarz gefärbte, sich abschuppende Epidermis intra vitam der Patientin zu sammeln und nach dem Tode die gefärbten Partien der Haut für uns herauszulösen. Die mit Alkohol und Aether extrahirte Epidermis wurde mit 3 proc. Natronlauge auf dem Wasserbade digerirt, wobei aber nur ein geringer Theil des Farbstoffs sich löste. Die alkalische, nicht braunröthlich, sondern nur gelblich tingirte Lösung zeigte keinen Absorptionsstreifen. Durch Ansäuern und Extrahiren mit Amylalkohol konnten wir nur noch constatiren, dass kein Urobilin vorhanden war. Aehnlich wie bei Säurezusatz zu einer alkalischen Lösung der Haare, wurde auch hier bei Säurezusatz eine klebrige, an den Wänden haftende Proteïnsubstanz gefällt. Wir haben zu Lebzeiten dieser Patientin', sowie in einem anderen Falle von Morbus

Addisonii wiederholt die Schwefelsäure der Salze, die Aetherschwefelsäure und den nicht oxydirten Schwefel im Harn bestimmt[1]), jedoch nichts Abnormes gefunden. Das Verhältniss des nicht oxydirten zum oxydirten Schwefel schwankte hier zwischen 1 : 4.4 bis 1 : 7.1. Nach Salkowski's Bestimmungen ist dieses Verhältniss im normalen Harn wie 1 : 5.

Entgegnung

von

M. Nencki.

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. 24, 27.

Seit der Veröffentlichung unserer Arbeiten über die Farbstoffe der Melanosarkome sind sowohl Analysen des Hippomelanins von Herrn Dr. Miura[2]) aus Tokio, der unter Leitung Salkowski's arbeitete, als wie auch des Phymatorhusins von Herrn K. Mörner[3]) in Stockholm erschienen. Herr Miura erhielt bei der Analyse des Hippomelanins die gleichen Zahlen wie wir. Um die Eiweissstoffe zu entfernen, hat er das rohe Hippomelanin nicht mit verdünnter Salzsäure gekocht, sondern mit Magensaft verdaut, bis die Lösung keine Peptonreaction mehr gab. Sein Präparat enthielt nur 0.32 Proc. Asche, in der das Eisen kaum nachweisbar war.

Herr Mörner hat das Phymatorhusin sowohl aus den Geschwülsten, wie auch aus dem Harn dargestellt. Seine auf S. 128 l. c. zusammengestellten Analysen zeigen bezüglich des Kohlenstoffs, des Wasserstoffs und des Schwefels wenig Uebereinstimmung. Die zuert angeführte Zahl mit 55.72 Proc. C und 6.0 Proc. H ist das Mittel aus zwei Analysen, welche ergaben: 56.13 Proc. C, 6.33 Proc. H und 55.32 Proc. C, 5.65 Proc. H, wobei noch der Verfasser bemerkt, dass das Wasser im Chlorcalciumrohr sauer reagirte. Alle Präparate des Herrn Mörner waren stark aschehaltig — 2 bis 9 Proc. — und die Asche enthielt Eisen, 0.2 bis 0.028 Proc. vom Gewicht des Farbstoffs. Dieser Asche- und Eisengehalt liess sich schon durch Digestion mit 0.4 Proc. Salzsäure auf dem Wasserbade vermindern, noch vollständiger aber, als er seine Präparate mit 10proc. Salzsäure eine Stunde lang auf dem Wasserbade digerirte (l. c. S. 104), so dass der Eisengehalt nach seinen Bestimmungen dabei von 0.2 auf 0.028 Proc. sank. Herr Mörner nimmt trotzdem an, dass das Phymatorhusin Eisen enthalte und die Ungleichheiten in der Zusammensetzung seiner Präparate mit unserem Phymatorhusin darauf beruhen, dass Berdez und ich den Farbstoff einer zu eingreifenden Behandlung (ein- bis zweistündiges Kochen mit 10proc. Salzsäure) unterworfen haben. Herr Mörner adoptirt dann den Namen Phymatorhusin für seine Producte von wechselnder Zusammensetzung, „wenn derselbe auch ursprünglich für den veränderten Farbstoff angewendet worden ist".

---

[1]) Die erhaltenen Zahlen sind in einer Publication von Dr. Kummer im Correspondenzblatt f. Schweiz. Aerzte, Jahrg. 1886 veröffentlicht.

[2]) Virchow's Archiv **107**, 250, Jahrg. 1887.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**, 66 u. f.

Die procentische Zusammensetzung des Farbstoffes von Herrn Mörner wechselt mit allen möglichen Zahlen innerhalb folgender Grenzen: C 55.3 bis 58.0 Proc., H 5.6 bis 8.0 Proc., N 11.0 bis 12.3 Proc., S 4.7 bis 10.1 Proc., Asche 2.0 bis 9.38 Proc.; und dabei Fe 0.25 bis 0.028 Proc.

Kein einziges Präparat des Herrn Mörner hat annähernd die gleiche procentische Zusammensetzung, aber Differenzen, z. B. im Schwefelgehalt von über 1 Proc., sind für ihn „keine bedeutenden Verschiedenheiten“. Seine sämmtlichen Präparate sind stark aschehaltig. In einem Falle lassen sich z. B. die 9.38 Proc. Asche durch einstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade mit 10proc. Salzsäure auf weniger als 1 Proc. herunterdrücken. Dabei sinkt nach seinen Bestimmungen der Eisengehalt des Präparates von 0.2 auf 0.028 Proc. herab. Ein anderes Phymatorhusinpräparat, das in 0.4 proc. Salzsäure aufgeschwemmt und auf dem Wasserbade digerirt wurde, enthielt nur 0.072 Proc. Eisen bei 2.0 Proc. Asche. Für Jeden also, der Augen zum Sehen hat, ist es einleuchtend, dass mit der Entfernung der Asche selbst durch äusserst verdünnte Säuren und ohne Siedehitze auch der Eisengehalt des Phymatorhusins bis auf minimale Mengen herabgedrückt wird. Oder hält wirklich Herr Mörner Präparate mit 0.02 bis 0.07 Proc. Eisen für reine chemische Individuen? Schade, dass er dann das Molekulargewicht solcher Phymatorhusinpräparate nicht berechnet hat. Das Riesenmolekül des Hämoglobins wäre ja nichts dagegen.

Wenn Herr Mörner das in der Asche gefundene Eisen als wesentlichen Bestandtheil des Phymatorhusins betrachtet, mit welchem Recht ignorirt er die übrigen von ihm in der Asche vorgefundenen Bestandtheile, wie Kalk, Baryt, Kieselsäure, Phosphorsäure u. s. w.? Sie können ja ebenso wesentlich für sein Phymatorhusin sein wie das Eisen.

Für mich wird aber nach wie vor der Grundsatz gelten, dass, wenn ein Rohproduct beim Reinigen einzelne seiner Bestandtheile verliert und dabei seine Eigenschaften: Löslichkeit u. s. w., nicht ändert, diese Bestandtheile ihm eben nicht eigen, sondern zufällige Beimengungen und Verunreinigungen sind. Wenn z. B. dem Hämoglobin oder Hämatin Eisen entzogen wird, so entstehen daraus Körper nicht nur von ganz anderer Zusammensetzung, sondern auch ganz anderen Eigenschaften. Dies ist beim Phymatorhusin nicht der Fall, wie ja Herr Mörner selbst angiebt. Er erwärmte ein Phymatorhusinpräparat, das 12.3 Proc. N enthielt, 10 Stunden lang mit 10proc. Salzsäure auf dem Wasserbade. Das Aussehen desselben veränderte sich nicht und das Präparat, wieder analysirt, enthielt 12.06 Proc. N, also eine Uebereinstimmung, mit welcher jeder geübte Analytiker sonst ganz zufrieden ist. An einem anderen Orte seiner Arbeit sind für ihn Unterschiede von mehr wie 1 Proc. im Schwefelgehalte „an und für sich nicht besonders bedeutend“ (S. 129). Hier aber giebt ihm eine Differenz von 0.24 Proc. Grund zur Erklärung, dass der Stickstoffgehalt des Präparates bei der Behandlung desselben mit Salzsäure sich in merkbarem Grade vermindert hat.

Nach meinem Dafürhalten ist das reine, aschefreie Phymatorhusin, wie es von mir und Berdez dargestellt worden, eisenfrei. Die sämmtlichen Präparate Mörner's sind nicht rein, weil sie aschehaltig sind und ein Eisengehalt der Asche von 2 bis 8 Proc.,

wie ihn Mörner gefunden, ist bei der Asche thierischer Substanzen nichts Ungewöhnliches. Nach den schönen, kürzlich veröffentlichten Untersuchungen meines Landsmanns Zaleski[1]) in Dorpat enthält die blutfreie Leber, aus welchem Organe wir hauptsächlich das Phymatorhusin dargestellt haben, zwischen 0.03 bis 1.2 Proc. Eisen der Trockensubstanz. In einem Falle von Diabetes mellitus fand Quincke sogar 3.6 Proc. Fe des trockenen Lebergewichtes. Das Eisen ist darin in Form von theilweise sehr beständiger Eiweissverbindungen, wie z. B. das Häpatin Zaleski's, enthalten. Auch der völlig blutfreie Muskel ist nach den Untersuchungen Zaleski's[2]) eisenhaltig. Die völlige Befreiung des Phymatorhusins von Eiweiss und Asche gelingt nur schwer und wir mussten das Rohproduct ein bis zwei Stunden mit 10proc. Salzsäure zum Kochen erhitzen, bis die Peptonreaction im Filtrate verschwunden war. Aus der Thatsache, dass das Phymatorhusin kein Eisen im Molekül enthält, folgt ja nicht, dass dieser Farbstoff nicht durch die Zerstörung rother Blutkörperchen entstehe. Wir urgirten nur in unserer Publication, dass das schwefelhaltige Phymatorhusin nicht aus dem farbigen Bestandtheil des Hämoglobins — dem Hämatin — entstehen kann. Seine Bildung aus dem eiweissartigen Componenten des Hämoglobins — dem Globin — ist dabei nicht ausgeschlossen. Die Aehnlichkeit in der Zusammensetzung und den Eigenschaften zwischen dem Farbstoff der melanotischen Sarkome, namentlich der Pferde, und dem der Haare macht es sehr wahrscheinlich, dass ihre Bildung im Organismus aus gleichem Material, und zwar eiweissartiger Natur geschieht. Ob dieses Eiweiss aus dem Hämoglobin abstammt oder ob der Farbstoff in den Zellen der Sarkome, resp. den Matrixzellen der Haarrinde durch die sogenannte metabolische Thätigkeit der Zellen aus anderen Eiweissstoffen entsteht, darüber bringt selbstverständlich die chemische Analyse keine Aufklärung. Auf Grund unserer Analysen der Melanine verschiedenen Herkommens, wonach z. B. das Choroideapigment schwefelfrei ist, haben wir schon früher betont, dass die Bildung dieser Pigmente im Organismus nicht an allen Orten nach gleichem Modus geschieht. Es ist ebenso möglich, dass, wenn Melanosarkome primär am Auge entstehen, das Pigment der primären und metastatischen Tumoren, sowie auch der mit dem Harn eliminirte Farbstoff schwefelfrei sein werden.

Bern, im April 1887.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**, 453.

[2]) Centralbl. f. med. Wissensch. 1887, Nr. 5 u. 6.

Ueber die Menge des bei der Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin aufgenommenen Sauerstoffs

von

M. Lebensbaum.

Monatsh. f. Chem. **8**, 165. — Inaug.-Dissert. Bern.

Unsere Kenntniss der Blutkrystalle ist durch die Untersuchungen der letzten Jahre wesentlich erweitert worden. Während noch bis vor wenigen Jahren nur das Oxyhämoglobin und etwa noch das Kohlenoxydhämoglobin in krystallinischem Zustande bekannt und analysirt waren, machten Hüfner und Otto[1]) vor etwa fünf Jahren die Beobachtung, dass auch das durch den einen Absorptionsstreifen im Roth ausgezeichnete Methämoglobin ebenfalls krystallisirt und die gleiche Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin hat. Hüfner hat dann gemeinschaftlich mit seinen Schülern R. Külz[2]) und Jak. G. Otto[3]) gezeigt, dass das reine krystallisirte Methämoglobin ebenso viel austreibbaren Sauerstoff als das Oxyhämoglobin enthalte; nur ist der Sauerstoff im Methämoglobin fester als im Oxyhämoglobin gebunden.

Dass das reducirte venöse Hämoglobin ein ebenfalls krystallisirender Körper ist, hat nach einer kürzlich erschienenen Publication von August Ewald[4]) zuerst W. Kühne[5]) an mikroskopischen Präparaten gesehen. Diese Beobachtung Kühne's gerieth jedoch in Vergessenheit, namentlich nachdem es Hoppe-Seiler[6]) nicht gelungen, sein reducirtes Hämoglobin krystallinisch zu erhalten. Im Jahre 1880 hat Hüfner[7]) unter dem Namen „krystallinisches Hämoglobin" Krystalle des reducirten Hämoglobins beschrieben, die er aus Menschenblut erhielt, als dasselbe zwei Monate lang bei Sommertemperatur in zugeschmolzenen Röhren faulte. Im verflossenen Jahre haben dann M. Nencki und N. Sieber[8]) mitgetheilt, dass aus gefaultem Pferde- oder Menschenblute nach gleichem Verfahren wie das Oxyhämoglobin nur bei Ausschluss von Sauerstoff venöse Hämoglobinkrystalle in jeder beliebigen Menge dargestellt werden können.

Ausser diesen wasserlöslichen Hämoglobinarten wurde von M. Nencki und N. Sieber[9]) als Parahämoglobin die in Wasser unlösliche, durch Einwirkung von Alkohol auf Oxyhämoglobinkrystalle entstehende Modification des Hämoglobins

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem., **7**, 65 bis 70.
[2]) l. c. **7**, 366.
[3]) Pflüger's Archiv, **31**, 245.
[4]) Zeitschr. f. Biol., **22**, 462 (1886).
[5]) Virchow's Archiv. **34**, 423.
[6]) Dessen Med.-chem. Untersuchung, Heft 3, 366 (1868).
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 382.
[8]) Ber. **19**, 128 u. 410. — Dieser Band S. 21 u. 23.
[9]) Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **20**, 332. — Nencki's Opera omnia **1**, 795.

beschrieben. Dieses Hämoglobin hat die gleiche procentische Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin, ist in Wasser und Alkohol unlöslich, von wässerigen Säuren und Alkalien wird es allmählich gelöst und gleichzeitig in Hämatin und Eiweiss gespalten.

Bei dieser Spaltung des Parahämoglobins in Eiweiss und Hämatin ist nach den Beobachtungen von Nencki und Lachowicz[1]) nicht allein Sauerstoff, sondern auch Wasser betheiligt. Bringt man in ein mit Quecksilber abgesperrtes Eudiometer Parahämoglobin, trockenen Sauerstoff und ammoniakhaltigen absoluten Alkohol zusammen, so löst sich ein Theil des Parahämoglobins im Alkohol mit schön rother Farbe auf und die Lösung, spectroskopisch untersucht, zeigt nur einen Absorptionsstreifen zwischen D und E. Selbst nach zweitägigem Stehen blieb die Farbe der Flüssigkeit unverändert und zeigte keine Spur eines Absorptionsstreifens im Roth. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Eudiometer sammt seinem Inhalt in Wasser gebracht und jetzt konnte man sehen, wie bei Berührung mit dem letzteren die Farbe der Lösung sich änderte. Sie wurde braunroth und bei der spectroskopischen Untersuchung zeigte sich, dass der Streifen zwischen D und E verschwunden und statt dessen der Hämatinstreifen im Roth sichtbar wurde.

Nencki und Lachowicz wiederholten den Versuch, nur mit der Abänderung, dass jetzt das Parahämoglobin mit wässeriger Kalilösung in Berührung gebracht wurde. 0.3612 g über SO_4H_2 getrockneten Parahämoglobins wurden in ein mit Quecksilber und Sauerstoff gefülltes Eudiometer in einem Gläschen hineingebracht. Das Volum des Sauerstoffs, auf 0° und 760 mm Bst. reducirt, war = 36.29 ccm. Hierauf wurden noch 55 ccm 5 proc. Kalilauge hinzugelassen, das Ganze jetzt über Quecksilber stehen gelassen und häufig umgeschüttelt. Nach vier Tagen, als das Parahämoglobin vollkommen gelöst war, wurde das Eudiometer sammt Inhalt ins Wasser gebracht und das rückständige O_2-Volumen abgelesen. Auf 0° und 760 mm Bst. reducirt, war dasselbe = 20.83 ccm. Danach wurden 15.36 ccm oder 0.02196 g Sauerstoff absorbirt. 100 g Parahämoglobin haben also bei der Spaltung in Hämatin und Eiweiss 6.08 g Sauerstoff absorbirt.

Von Hoppe-Seyler rührt die Beobachtung her, dass wässerige Oxyhämoglobinlösungen mit verdünnten Alkalien bei völligem Sauerstoffausschluss zusammengebracht zunächst nicht in Hämatin und Eiweiss zerfallen, sondern es entsteht eine schön gefärbte Flüssigkeit, welche noch bei sehr grosser Verdünnung nur einen Streifen ziemlich genau in der Mitte zwischen den Linien D und E hervorruft. Der Farbstoff von dieser charakteristischen Eigenschaft wird von ihm Hämochromogen genannt. Bei Luftzutritt werde das Hämochromogen sofort zersetzt, wobei unter Sauerstoffaufnahme Hämatin entsteht.

Wie aus dem Obigen also ersichtlich, wird sowohl aus dem Oxyhämoglobin, wie aus dem Parahämoglobin bei Ausschluss von Sauerstoff und Wasser zunächst das Hämochromogen gebildet. Ob in dem Hämochromogen das Eiweiss noch in einer chemischen Verbindung mit dem Farbstoff sich befindet, ist nicht entschieden. Soviel ist nur sicher, dass bei der Bildung des Hämatins aus dem Hämo-

[1]) Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **20**, 339. — Nencki's Opera omnia **1**, 800.

chromogen Sauerstoff und Wasser mitwirken. Bei Ausschluss eines der beiden Factoren entsteht kein Hämatin.

Wie viel Sauerstoff bei der Abspaltung des Hämatins aufgenommen wird, darüber existirt nur die einzige, oben citirte Bestimmung von Lachowicz und Nencki und zwar bezüglich des Parahämoglobins. Es war daher wünschenswerth, derartige Bestimmungen zunächst auch mit Oxyhämoglobin auszuführen. Im Falle die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs stets eine constante Grösse war, liess es sich erwarten, dass weitere derartige Bestimmungen mit Kohlenoxyd, Methämoglobin und dem venösen Hämoglobin zu interessanten Aufschlüssen über die Natur dieser Körper führen würden. Auf Vorschlag von Prof. Nencki habe ich diese Bestimmungen unternommen, und zwar zunächst in ähnlicher Weise, wie dies von Nencki und Lachowicz geschah. Zweimal aus warmem Wasser umkrystallisirtes Oxyhämoglobin wurde durch Abpressen zwischen Fliesspapier möglichst von der Mutterlauge befreit und, um das Trockengewicht der zur Sauerstoffabsorption verwendeten Portion zu erfahren, ein abgewogener Theil der feuchten Krystalle im Luftbade bei 110 bis 115° im Wasserstoffstrome bis zu constantem Gewichte getrocknet. Gleichzeitig wurde ein anderer Theil der gleichen Krystalle in ein offenes Gläschen abgewogen, das Gläschen in ein mit bekanntem Volum Sauerstoff gefülltes Eudiometer über das Quecksilber hineingeschoben und hierauf mit einer gebogenen Pipette 20 bis 25 ccm 5 proc. Kalilauge in das Eudiometer hineingebracht. Trotz häufigen Schüttelns lösten sich die Hämoglobinkrystalle nur langsam auf, so dass die völlige Auflösung, je nach der Menge der angewandten Krystalle, erst nach vier bis sechs Tagen erfolgte. Man konnte gut sehen, dass mit Beginn der Auflösung die Farbe der Flüssigkeit gleich die braunrothe Nuance alkalischer Hämatinlösung annahm. Um sicher zu sein, dass nach völliger Auflösung des Oxyhämoglobins auch vollkommene Spaltung desselben eintrat und kein Sauerstoff mehr absorbirt werde, liess ich gleich bei dem ersten Versuche das Eudiometer noch einen Tag länger stehen. Gegen meine Erwartung fand ich am folgenden Tage, dass das Sauerstoffvolum sich merklich verminderte, als Zeichen, dass von der alkalischen Flüssigkeit noch immer Sauerstoff absorbirt werde. Dies war auch in den folgenden Tagen der Fall, so dass die Hauptmenge des Sauerstoffs erst nach der Auflösung der Krystalle absorbirt wurde. Erst am 30. Tage habe ich den Versuch unterbrochen und eine zweite gleichzeitig aufgestellte Bestimmung liess ich noch länger, nämlich bis zum 42. Tage stehen.

Das Resultat der beiden Bestimmungen war folgendes:

I. Angewandte feuchte Hämoglobinkrystalle = 0.92 g entsprechend 0.443 g bei 110° getrockneten Oxyhämoglobins.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption [1]):

$$V' = 38.6 \quad D = 208 \quad B = 697 \quad T = 17.3 \quad e = 14.697$$

und daraus:

$$V^0 = 22.68 \text{ ccm } O_2.$$

[1]) Es bezeichnen hier, wie in den folgenden Versuchen:

V' Das abgelesene Volum des Sauerstoffs im Eudiometer.

D Den Unterschied zwischen dem äusseren und inneren Niveau des Quecksilbers.

B Den Barometerstand.

Nach 30 tägigem Stehen wurde das Eudiometer in Wasser überbracht und das rückständige Sauerstoffvolum abgelesen.

$$V' = 12.8 \quad B = 691 \quad T = 13.3 \quad e = 11.383$$

und daraus

$$V^0 = 10.91\ O_2.$$

0.443 g Oxyhämoglobin absorbirten demnach nach 30 tägigem Stehen bei Zimmertemperatur:

$$11.77\ \text{ccm}\ O_2\ (22.68 - 10.91) = 0.01682\ \text{g}\ O_2$$

oder 3.80 Proc. Sauerstoff.

II. Versuch. Dauer 42 Tage. Angewandtes trockenes Oxyhämoglobin = 0.612 g.

Ursprüngliches Sauerstoffvolumen:

$$V' = 54 \quad D = 194 \quad B = 695 \quad T = 17.5 \quad e = 14.882$$

und daraus:

$$V^0 = 32.46\ O_2.$$

Nach Beendigung des Versuches:

$$V' = 13 \quad B = 706 \quad T = 14.6 \quad e = 12.378$$

und daraus:

$$V^0 = 11.26\ O_2.$$

Die Menge des absorbirten Sauerstoffs war also hier 21.20 ccm (32.46 — 11.26) = 0.0303 g O_2 oder 4.95 Proc. O_2.

Wie man sieht, ist in der Probe, die länger gestanden ist, auch die Menge des absorbirten Sauerstoffs grösser. Es war daher zu untersuchen, ob durch noch längeres Stehen der alkalischen Flüssigkeit die Sauerstoffabsorption nicht ein Ende haben wird. Um aber das umständliche lange Stehen des Eudiometers über Quecksilber zu vermeiden, wurde die alkalische Hämoglobinlösung statt mit reinem Sauerstoff mit Luft stehen gelassen. Die Anordnung des Versuches war folgende: Eine 1.3 bis 1.5 mm weite Röhre von leicht schmelzbarem Glase wurde an einem Ende zu einer etwa 300 bis 400 ccm haltigen Kugel aufgeblasen und zunächst mit dem die feuchten abgewogenen Krystalle enthaltenden Gläschen und 20 bis 25 ccm destillirtem Wasser beschickt. Hierauf wurde das Glasrohr umgebogen und in das vordere Knie, etwa 5 cm von dem offenen Ende entfernt, ein abgewogenes Kalistückchen von etwa 1 bis 1.5 g hineingeschoben. Jetzt wurde das Ende des vorderen Knies am Gebläse vorsichtig — damit das Kalistückchen nicht in die Flüssigkeit hineinfalle — ausgezogen und zu einem capillaren Ableitungsröhrchen umgebogen. Nun liess ich den so beschickten, noch immer mit der äusseren Luft communicirenden Apparat, der dann die in Fig. 1 (a. f. S.) abgebildete Form hatte, bei der Zimmertemperatur etwa

T Die Temperatur.

e Die Spannkraft des Wasserdampfes bei der Temperatur T.

V^0 Das nach der Formel

$$V^0 = V' \cdot \frac{B-D-e}{760} \cdot \frac{273}{273+T}$$

auf 0° und 760 mm Bst. reducirte Gasvolumen.

eine Stunde offen stehen, notirte die Temperatur und Barometerstand und schmolz hierauf das capillar umgebogene Ende mit einer spitzen Flamme zu. Jetzt wurde durch Umdrehung der Kugel das Kalistückchen in Wasser gelöst und das Ganze bei Zimmertemperatur an ruhigem Orte stehen gelassen. Bei wiederholtem Umrühren erfolgte die vollständige Auflösung der Krystalle etwa am vierten bis fünften Tage. Ich liess jedoch die Kölbchen etwa ein bis zwei Monate stehen. Die Farbe der Lösung auch nach so langem Stehen war die des Hämatins, wie man auch spectroskopisch den Hämatinstreifen im Roth sah. Nach Beendigung des Versuches wurde das capillare Ende des Kölbchens unter Quecksilber abgebrochen und durch gelindes Erwärmen ein Theil der eingeschlossenen Luft in ein mit Quecksilber gefülltes Eudiometer übergetrieben, dazu noch der Rauminhalt des Kölbchens genau ausgemessen. Nach der Ablesung des Volums des aufgefangenen Gases wurde der noch vorhandene Sauerstoff durch Pyrogallussäure und Kali in der von Hempel[1]) empfohlenen Concentration absorbirt. Aus der Differenz zwischen dem normalen Gehalte der Luft an Sauerstoff 20.77 : 79.23 und dem jetzt gefundenen Sauerstoffgehalte wurde dann die von der alkalischen Blutlösung absorbirte Sauerstoffmenge berechnet.

Fig. 1.

In ähnlicher Weise habe ich nicht allein mehrere Bestimmungen mit Oxy-, sondern auch mit Kohlenoxydhämoglobin ausgeführt. Das durch Einleiten von Kohlenoxyd in eine Auflösung der Oxyhämoglobinkrystalle erhaltene Präparat wurde noch einmal aus lauwarmem Wasser umkrystallisirt und durch Abpressen zwischen Fliesspapier möglichst von der Mutterlauge befreit. Die Trockengewichtsbestimmung in einem anderen Theil der feuchten Krystalle geschah auch hier bei 110 bis 115° im Wasserstoffstrome. Nach der Bestimmung von Dr. J. Marschall[2]) werden von 1 g Hämoglobin 1.205 ccm (bei 0° und 1 m Druck) Kohlenoxyd festgehalten. Wenn daher bei der Zersetzung des Kohlenoxydhämoglobins durch Alkali in Hämatin und Eiweiss Kohlenoxydgas frei werden sollte, so wären bei der geringen Menge der von mir angewandten Substanz — 0.13 bis 0.26 g nicht mehr nachweisbare und bestimmbare Spuren von Kohlenoxyd in den aus den Kölbchen entnommenen Gasproben zu erwarten. Nach ungefährer Berechnung wäre das CO-Quantum etwa 0.01 bis 0.02 ccm. Ich konnte daher auch mittelst Salzsäure und Kupferchlorür in den entnommenen Gasproben qualitativ kein Kohlenoxyd nachweisen und betrachte die für das Kohlenoxydhämoglobin erhaltenen niedrigen Zahlen als dem wahren Sachverhalte entsprechend.

Die nach dieser Methode gemachten Bestimmungen haben folgende Resultate ergeben.

III. Versuch: Zugeschmolzener Kolben von 361 ccm Volumen bei 14° C. und 718 mm Bst. Hineingebracht 20 ccm 5 proc. Kalilösung und 0.7405 g feuchter Oxy-

[1]) Methoden der Gasanalyse. Braunschweig 1880, S. 45.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**, 91.

hämoglobinkrystalle = 0.336 g trockener entsprechend. Das Volum der Luft im Kolben auf 0° und 760 mm Bst. reducirt, war:

$V' = 341 \quad B = 718 \quad T = 14 \quad e = 11.908 \quad V^0 = 301.36$ ccm.

Analyse eines Theiles der Kolbenluft nach 49 tägigem Stehen ergab, dass:

$V' = 38 \quad B = 697.5 \quad D = 292 \quad T = 16.4 \quad e = 13.885$

und daraus:

$$V^0 = 18.47.$$

18.47 ccm der aus dem Kolben entnommenen Luft nach Umschütteln mit Pyrogallussäure und Kalihydrat enthielten Stickstoff

$V' = 17.6 \quad B = 706 \quad T = 11 \quad e = 9.72 \quad V^0 = 15.50$ ccm N_2.

Daraus folgt, dass die analysirte Luft 2.97 ccm O_2 enthielt, also waren aus der Kolbenluft 14.097 ccm O_2 = 0.02016 g oder 6.0 Proc. O_2 absorbirt.

IV. Versuch. Angewandt 0.5566 g feuchter Oxyhämoglobinkrystalle = 0.285 trockener Substanz. Kolbenluft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 301.36 ccm. Analyse der Kolbenluft nach 55 Tagen:

$V' = 45.4 \quad D = 253 \quad B = 714.5 \quad T = 13.9 \quad e = 11.832$

V' = 25.56 ccm $O_2 + N_2$.

21.41 ccm N_2 nach Absorption des O_2 durch Pyrogallussäure

4.15 ccm O_2.

Demnach haben 0.285 g Oxyhämoglobinkrystalle 13.67 ccm O_2 = 0.01955 g oder 6.85 Proc. O_2 absorbirt.

V. Versuch. Angewandt 0.719 g feuchter Krystalle = 0.324 g trockener Substanz. Kolbenluft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 204.97 ccm.

Analyse der Kolbenluft nach 25 Tagen

$V' = 45.4 \quad D = 284 \quad B = 696 \quad T = 14.8 \quad e = 12.538$

V^0 = 18.85 ccm $O_2 + N_2$.

15.60 ccm N_2 nach Absorption des Sauerstoffs durch Pyrogallussäure

3.25 ccm O_2.

Demnach wurden 7.239 ccm O_2 = 0.01035 g O_2 absorbirt, also 3.19 Proc. O_2.

VI. Versuch. Der Versuch wurde im Eudiometer gemacht mit Sauerstoff.

Angewandtes feuchtes Oxyhämoglobin 1.6375 g = 0.5739 g trockener Substanz. Zusatz von 25 ccm 5 proc. Kalilauge.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$V' = 27.2 \quad B = 715 \quad D = 105 \quad T = 12 \quad e = 10.457 \quad V^0 = 20.55$ ccm.

Nach achttägigem Stehen

$V' = 16.6 \quad B = 714 \quad T = 8.7 \quad e = 8.407 \quad V^0 = 14.93$ ccm O_2.

Es wurden also 5.62 ccm O_2 oder 1.4 Proc. O_2 absorbirt.

Bestimmungen mit CO-Hämoglobinkrystallen.

I. Versuch. Angewandtes trockenes CO-Hämoglobin 0.1888 g. Die Krystalle waren vorher sechs Monate lang in absolutem Alkohol aufbewahrt. Die Form

der Krystalle war vollkommen erhalten und im Polarisationsmikroskope zeigten sie sehr schönes Doppelbrechen. Sie wurden über H_2SO_4 bis zum constanten Gewicht getrocknet. Versuch mit Sauerstoff im Eudiometer.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 46.3 \quad B = 718.5 \quad D = 338.5 \quad T = 15.6 \quad e = 13.197$$

und daraus:

$$V = 21.14 \text{ ccm } O_2.$$

Nach siebentägiger Absorption

$$V' = 22.2 \quad B = 716 \quad T = 15.8 \quad e = 13.306$$

und daraus

$$V^0 = 19.40 \text{ ccm } O_2.$$

Es haben also 0.1888 g CO-Hämoglobin 1.737 ccm = 0.002483 g oder 1.31 Proc. O_2 absorbirt.

II. Versuch. Genommen 0.1545 g trockener CO-Hämoglobinkrystalle von derselben Portion wie im I. Versuche. Versuch im Eudiometer mit Sauerstoff.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 64.3 \quad D = 223 \quad B = 720 \quad T = 18 \quad e = 15.357$$

$$V^0 = 38.23 \text{ ccm } O_2.$$

Nach O_2-Absorption nach neun Tagen war im Eudiometer:

$$V' = 42.3 \quad B = 720 \quad T = 18 \quad e = 15.357 \quad V^0 = 36.79 \text{ ccm } O_2.$$

Es wurden absorbirt 1.44 ccm = 0.00205 g O_2 oder 1.33 Proc.

III. Versuch. Kolbenluft nach Zusatz von 25 ccm Kalilauge auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 322.5. Angewandtes feuchtes CO-Hämoglobin = 0.2396 g trockener Substanz.

Analyse der Kolbenluft nach 42 tägigem Stehen:

$$V' = 55.3 \quad D = 196 \quad T = 11.3 \quad B = 718.5 \quad e = 9.99$$

$$V^0 = 35.81 \text{ ccm } O_2.$$

Nach Absorption des Sauerstoffs durch Pyrogallussäure blieb im Kolben 29.08 ccm N_2.

Demnach betrug die Absorption 3.79 Proc. O_2.

IV. Versuch. Kolbenluft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt = 320.8 ccm. Genommen 0.3154 feuchter = 0.133 trockener CO-Hämoglobinkrystalle.

Analyse der Kolbenluft nach 58 tägigem Stehen:

$$V' = 44.6 \quad B = 712.5 \quad D = 254 \quad T = 17.1 \quad e = 14.513$$

$V^0 = 24.52$ ccm $O_2 + N_2$. Nach Zusatz von Pyrogallussäure:

19.75 ccm N_2

4.77 ccm O_2.

Es waren hieraus 4.1 ccm = 0.005863 g O_2 absorbirt, was 4.4 Proc. O_2 beträgt.

V. Versuch. Angewandte feuchte Substanz = 0.272 g trockener Substanz. Die Kolbenluft auf 0° und 760 mm Bst. reducirt betrug 254.64 ccm. Zersetzung der CO-Krystalle durch 25 ccm Kali.

Nach 34 Tagen wurde die Kolbenluft analysirt:

$$V' = 25.3 \quad D = 125 \quad B = 711.5 \quad T = 14.4 \quad e = 12.220$$
$$V^0 = 18.16 \text{ ccm } N_2 + O_2.$$

Nach Zusatz von Pyrogallussäure:

$$V' = 16.6 \quad T = 10 \quad B = 712 \quad e = 9.665$$
$$V^0 = 14.80 \text{ ccm } N_2.$$

Demnach wurden 5.75 ccm O_2 oder 3.02 Proc. O_2 absorbirt.

Die Resultate aller meiner Versuche über die Sauerstoffabsorption durch alkalische Hämoglobinlösungen veranschaulicht die nachfolgende Zusammenstellung:

Oxyhämoglobin absorbirt bei seiner Zersetzung Sauerstoff:

nach 8 Tagen	. . . .	1.4 Proc.
„ 25 „	. . . .	3.19 „
„ 30 „	. . . .	3.80 „
„ 42 „	. . . .	4.95 „
„ 49 „	. . . .	6.0 „
„ 55 „	. . . .	6.85 „

CO-Hämoglobin absorbirt Sauerstoff:

nach 7 Tagen	. . . .	1.31 Proc.
„ 9 „	. . . .	1.33 „
„ 34 „	. . . .	3.02 „
„ 42 „	. . . .	3.79 „
„ 58 „	. . . .	4.4 „

Ein Blick auf diese Zahlen zeigt, dass die Sauerstoffabsorption sowohl durch das Oxy-, sowie Kohlenoxydhämoglobin einfach von der Dauer des Versuches abhängig ist, indem sie mit der Zeit stetig zunimmt und selbst nach 55 tägiger Einwirkung nicht constant wird. Da die Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin augenblicklich bei der Auflösung des ersteren in Alkali geschieht, so ist die von mir beobachtete Sauerstoffabsorption die Folge zweier verschiedener Processe und zwar erstens der Sauerstoffaufnahme bei der Entstehung des Hämatins und zweitens unabhängig davon stattfindender Sauerstoffaufnahme durch das Eiweiss in alkalischer Lösung. Durch die Untersuchungen von Nencki und Sieber[1]) „Ueber die physiologische Oxydation" ist es bekannt, dass Eiweiss, sei es in fixen oder kohlensauren Alkalien gelöst, schon bei der Bruttemperatur, rascher beim Kochen Sauerstoff absorbirt, und darauf ist es zurückzuführen, dass in meinen Versuchen während und lange nach vollständiger Auflösung des Hämoglobins noch immer weiter Sauerstoff absorbirt wurde. Dass das entstandene Hämatin in alkalischer Lösung selbst weiter Sauerstoff absorbire, ist bei der Beständigkeit dieses Farbstoffes gegen Alkalien ganz unwahrscheinlich.

Von besonderem Interesse ist die Thatsache, dass Kohlenoxydhämoglobin stets weniger Sauerstoff aufnimmt als die Oxyverbindung, und wahrscheinlich werden derartige Bestimmungen mit den anderen Hämoglobinarten ähnliche Differenzen aufweisen.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **26**, 1. — Nencki's Opera omnia **1**, 643.

Um nun zu erfahren, wie viel Sauerstoff bei der Umwandlung von Oxyhämoglobin in Eiweiss und Hämatin absorbirt wurde, musste die Zersetzung der Hämoglobinkrystalle durch Säuren geschehen, da nach den Versuchen von Nencki und Sieber[1]) Eiweiss in saurer Lösung keinen Sauerstoff absorbirt.

Zunächst hatte ich zu untersuchen, welche Säure und in welcher Concentration sich zu der Zersetzung eigne. Feuchte Hämoglobinkrystalle wurden einerseits mit 5 proc., 1 proc., 0.5 proc. und 0.1 proc. Schwefelsäure, andererseits mit Oxalsäure von gleichen Concentrationen übergossen und geschüttelt. Am geeignetsten für meinen Zweck zeigte sich die Schwefelsäure von 1 pro Mille, indem erst bei dieser Verdünnung das Hämoglobin sich allmählich klar und ohne Gerinnselbildung löste. Die anfangs hellrothe Farbe der Lösung geht sehr bald in die braunrothe Nuance des Hämatins über. Concentrirtere Mineralsäuren coaguliren das Hämoglobin und das oberflächlich entstandene Gerinnsel verhindert den Sauerstoffzutritt zu den eingeschlossenen Partikeln. Von 3 proc. bis 5 proc. Oxalsäure wird das Oxyhämoglobin ebenfalls gelöst und zersetzt, jedoch nicht so vollständig, als wie das mit der Schwefelsäure der Fall ist.

Die Versuche wurden in mit Sauerstoff über Quecksilber gefülltem Eudiometer ausgeführt. Um der vollständigen Zersetzung sicher zu sein, wurden nach erfolgter Auflösung der Krystalle noch einige Cubikcentimeter $^1/_2$ proc. Schwefelsäure zugesetzt. Nach vollendeter Zersetzung, wenn keine Sauerstoffabsorption zu merken war, wurde die saure Flüssigkeit, um etwa entstandene Kohlensäure zu binden, durch Zusatz von einem Kalistückchen alkalisch gemacht, sodann das Eudiometer in Wasser übertragen und das rückständige Sauerstoffvolumen abgelesen.

Die so ausgeführten Bestimmungen gaben mir folgende Zahlen:

I. Versuch. Genommen 1.1999 feuchtes Oxyhämoglobin = 0.4205 g trockener Substanz. Zugesetzt etwa 30 ccm 1 pro Mille H_2SO_4.

Vor der Absorption war im Eudiometer Sauerstoff:

$V' = 45 \quad B = 714.5 \quad D = 200 \quad T = 9 \quad e = 8.57 \quad V^0 = 29$ ccm O_2.

Nach vier Tagen war im Eudiometer O_2:

$V' = 30 \quad T = 14.3 \quad B = 719.5 \quad e = 12.14 \quad V^0 = 26.53$ ccm O_2.

Die Absorption betrug demnach 0.84 Proc. O_2.

II. Versuch. Angewandt 0.6757 g feuchter Oxykrystalle = 0.257 g trockener Substanz. Zersetzt mit 25 ccm 1 pro Mille H_2SO_4 mit nachherigem Zusatz von etwa 2 ccm $^1/_2$ proc. H_2SO_4. Dauer des Versuches sechs Tage.

Sauerstoff im Eudiometer vor der Absorption:

$V' = 29 \quad D = 89 \quad B = 712 \quad T = 17 \quad e = 14.421 \quad V^0 = 21.59$ ccm O_2,

nach der Absorption:

$V' = 21.4 \quad B = 715 \quad T = 5.7 \quad e = 6.857 \quad V^0 = 19.53$ ccm O_2.

Demnach wurden 1.15 Proc. O_2 absorbirt.

III. Versuch. Angewandte feuchte Oxykrystalle 1.1995 g = 0.457 g trockener Substanz. Zusatz von 30 ccm 1 pro Mille H_2SO_4 und nachher ca. 2 ccm $^1/_2$ proc. H_2SO_4.

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **26**. 1. — Nencki's Opera omnia **1**, 643.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$V' = 37.5$ $D = 297$ $T = 17$ $B = 712$ $e = 14.421$ $V^0 = 18.60$ ccm O_2,

nach der Absorption nach acht Tagen:

$V' = 17$ $B = 716$ $T = 10.2$ $e = 9.288$ $V^0 = 15.24$ ccm O_2.

Also wurden 1.05 Proc. absorbirt.

Es wurden demnach in den drei Versuchen absorbirt:

nach 4 Tagen	0.84 Proc.
„ 6 „	1.15 „
„ 8 „	1.05 „

Wie man sieht, stimmen die Bestimmungen ziemlich unter einander. Im ersten Versuche, wo etwas grössere Hämoglobinmenge 1.1999 feuchter = 0.4205 g trockener Substanz nur vier Tage lang in der sauren Lösung gestanden ist, ist die Quantität des absorbirten Sauerstoffs ein wenig kleiner. Da nach achttägigem Stehen eine grössere Menge der Substanz nicht mehr Sauerstoff absorbirte, als die kleinere Menge nach sechs Tagen, so ist der Schluss wohl berechtigt, dass die Zersetzung des Hämoglobins und die Sauerstoffaufnahme vollendet war. Im Mittel aus den drei Bestimmungen würden danach 100 g trockenen Hämoglobins beim Zerfall in Eiweiss und Hämatin 1.014 g Sauerstoff absorbiren. Das Mittel aus den zwei letzten Bestimmungen ist gleich 1.1 g O_2 für 100 g Hämoglobin.

Am Schlusse erlaube ich mir meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Nencki, meinen besten Dank für die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit auszusprechen.

Ueber die Spaltung des Salols mit Rücksicht auf dessen therapeutische Verwerthung zu innerlichem und äusserlichem Gebrauch

von

H. Sahli.

Therapeutische Monatshefte, September. — Wir lassen diese Arbeit drucken, weil sie in naher Beziehung zu den Untersuchungen von Professor Nencki und seinen Schülern steht. II.

Es lag ausserordentlich nahe, einen aus zwei unserer besten Antiseptica zusammengesetzten Körper, wie das salicylsaure Phenol oder Salol, auch auf seine antiseptischen Eigenschaften zu prüfen. Dabei durfte man aber natürlich von vornherein die Erwartungen nicht zu hoch spannen, weil das Salol ein in Wasser vollkommen unlöslicher Körper ist, und weil auch für die Antiseptica bis auf einen gewissen Grad der chemische Grundsatz gilt: corpora non agunt nisi fluida. In der That ist auch für die übrigen unlöslichen Antiseptica schon längst bekannt, dass sie

nicht zur eigentlichen Desinfection, sondern höchstens zur Hemmung der Bacterienentwickelung benutzt werden können und der Hauptnutzen der unlöslichen Antiseptica ist darin zu suchen, dass, wenn sie auch die pathogenen Pilze nicht tödten, sie doch durch ihre Gegenwart das Wachsthum derselben in solchem Maasse beschränken können, dass diese für den Organismus unschädlich bleiben. In dieser Beziehung haben die unlöslichen Antiseptica den grossen Vortheil vor den löslichen, dass sie bei der gewöhnlichen Art der Application in Salben- oder Pulverform dauernd an Ort und Stelle bleiben und nicht oder nur sehr langsam von den Geweben resorbirt werden. Ob die Bacterien aus einer mit einem unlöslichen Antisepticum behandelten Wunde auf ein passendes Nährmedium oder Impfthier übertragen sich noch so üppig entwickeln, das ist für den betreffenden Patienten ganz gleichgültig, wenn sie ihm nur, so lange als das unlösliche Antisepticum auf der Wunde weilt, nichts anhaben können. Ein gutes Desinfectionsmittel ist praktisch nie ein gutes Mittel zur Entwickelungshemmung der Bacterien und umgekehrt, weil die guten Desinfectionsmittel theils wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit, theils wegen ihrer Löslichkeit und Resorbirbarkeit oder ihrer Flüchtigkeit nie dauernd mit den Geweben in Berührung bleiben und weil andererseits die unlöslichen Antiseptica naturgemäss weniger intensiv wirken. Deshalb können sich entwickelungshemmende und Desinfectionsmittel nicht ersetzen. Beide sind gleich wichtig und unersetzbar an ihrem Ort. So ist das beste Desinfectionsmittel, Sublimat, als entwickelungshemmendes Mittel aus bekannten Gründen völlig unbrauchbar. Nichtsdestoweniger werden ja allerdings immer wieder Versuche mit unlöslichen Antiseptica gemacht und publicirt, welche die Begriffe von Desinfection und Entwickelungshemmung, wie sie von Koch so klar und scharf auseinandergehalten wurden, vermengen. Es sind dies alles Arbeiten, welche durch die Unklarheit ihrer Fragestellung unsere Kenntnisse nur wenig fördern.

Aber selbst die scheinbar einfache Frage nach der entwickelungshemmenden Wirkung unlöslicher antiseptischer Mittel darf nicht nach einigen wenigen einseitigen Versuchen über das Knie gebrochen werden. Wie gross die Verwirrung ist, welche hierdurch entstehen kann, ergiebt z. B. der ganze moderne Streit über die antiseptischen Eigenschaften des Jodoforms. Die Fragestellung ist eben nicht die: Wirkt dieses oder jenes Mittel antiseptisch? sondern man muss vielmehr Detailfragen stellen und zu beantworten suchen: Wirkt das betreffende Mittel unter diesen oder jenen bestimmten Verhältnissen antiseptisch? Sonst wird man immer wieder auf die für den Fernstehenden verblüffende Thatsache stossen, dass zwei Arbeiten über denselben Gegenstand zu genau entgegengesetzten Resultaten kommen.

So verhält es sich auch mit dem Salol. Ganz abgesehen von dem ungerechtfertigten Versuche, mit diesem unlöslichen Körper zu desinficiren, kann auch hier die Frage, ob dasselbe entwickelungshemmend auf Bacterien wirke, nicht in einer allgemeinen Form beantwortet werden. Es sei mir gestattet, mit Rücksicht hierauf einige auf dem hiesigen Laboratorium für physiologische Chemie angestellte Versuche mitzutheilen. Dieselben wurden unter Leitung von Herrn Prof. Nencki durch Herrn Leśnik, namentlich mit Rücksicht auf die theoretischen Fragen nach den Factoren vorgenommen, welche für die Spaltung des Salols in seine Componenten

maassgebend sind. Jedoch scheint es mir, dass die Resultate eventuell auch die Berücksichtigung der Praxis verdienen.

Es wird wohl ziemlich allgemein angenommen, dass die antiseptische Wirkung der sogenannten unlöslichen Antiseptica darauf beruht, dass sich entweder, trotz der Bezeichnung unlösliches Antisepticum, allmählich doch geringe Mengen des Körpers in den Wundsecreten lösen oder darauf, dass diese Substanzen in Berührung mit dem lebendigen Gewebe oder den Schizomyceten sich allmählich spalten in lösliche antiseptische Verbindungen. Von vornherein ist beides für das Salol nicht unwahrscheinlich. Die meisten Gewebe sind fetthaltig und in Fett löst sich Salol sehr leicht; ebenso aber ist eine Spaltung des Salols in Berührung mit lebendigem Gewebe oder Spaltpilzen schon a priori nicht unwahrscheinlich, da, wie Nencki schon früher gezeigt hat, die Fermente des Pankreas Salol sehr leicht und vollständig spalten und es ja andererseits längst nachgewiesen ist, dass den verschiedensten thierischen und pflanzlichen Geweben in lebendigem und todtem Zustande Fermentwirkungen eigen sind, dass auch gewisse physiologische Fermente der Verdauung, wie ihre Ausscheidung im Urin ergiebt, im ganzen Organismus beziehungsweise im Blut circuliren[1]) und dass auch Mikroorganismen gewisse Enzyme produciren und Fermentwirkungen entfalten können. Gerade für das Salol, wo für die Spaltung Fermentwirkungen, wie sie im Körper überall vorkommen, genügen können, scheinen daher die Chancen für die Anwendung als unlösliches Antisepticum nicht ungünstig zu liegen.

Ich habe das Salol schon vor meiner ersten Publication vielfach als pulverförmiges Antisepticum auf unreinen Wunden, Ulcerationen, Decubitus etc. angewendet und damit gute Resultate erzielt. Dr. Conrad, Docent für Gynäkologie in Bern, benutzt seit längerer Zeit mit 50 Proc. Salol imprägnirte Gazebinden zur Tamponade der Vagina bei verschiedenen mit Zersetzungsprocessen des Secretes im Innern dieses Organes einhergehenden Affectionen, gonorrhoischen und anderen Blennorrhoen etc. Er ist mit der desodorisirenden Wirkung dieser Binden sehr zufrieden. Die Jodoformbinden haben gegenüber den Salolbinden den Nachtheil des intensiven Geruchs und während eine 30 proc. Jodolbinde, die 3×24 Stunden in der Vagina gelegen hat, meist intensiv stinkt, ist dies bei den Salolbinden nach Dr. Conrad nicht der Fall. Dabei beobachtet Dr. Conrad an diesen Salolbinden eine deutliche, die Secretion beschränkende Wirkung, ohne dass eine adstringirende oder gar ätzende Wirkung mitspielte. Auch des Salolstreupulvers in einer Concentration von 1 : 1 bis 1 : 3 Talk bediente sich Conrad für Erosionen und Ulcerationen der Vagina mit gutem Erfolg in der Form von Insufflationen. Er hat eine deutliche antiseptische Wirkung des Verfahrens ohne eine Spur von Reizung und ein rasches Heilen der Geschwüre dabei beobachtet. Mir selbst allerdings fiel es einige Male auf, dass, sobald man den Salolstreupulvern einen zu hohen Gehalt an Salol giebt, die Einwirkung auf Wunden oder Granulationen nicht immer eine günstige ist, indem die Oberfläche derselben mitunter wie leicht geätzt aussieht. Ich legte mir die Sache so zurecht, dass ich annahm, es werde unter Umständen aus dem Salol durch die Gewebselemente mit

[1]) Sahli, Pflüger's Arch. 1885.

solcher Energie Phenol und Salicylsäure regenerirt, dass diese Componenten ihre bekannte Aetzwirkung entfalten können. Denn wie sollte anders das indifferente und unlösliche Salol ätzend wirken können. Wählte ich für die Streupulver eine schwächere Concentration (5- bis 10- bis 30proc.), so blieb die Aetzwirkung aus und ich habe noch jetzt alle Ursache, mit der Wirkung dieser Applicationen für unreine Wunden und Geschwüre zufrieden zu sein. Sehr wichtig bei der Anwendung solcher Streupulver ist es, dass dieselben möglichst fein sind. Das Salol hat, wie sich aus dem Knirschen desselben unter den Zähnen ergiebt, wahrscheinlich einen sehr beträchtlichen Härtegrad trotz seiner Sprödigkeit und ein grobes Salolstreupulver kann also unter einem Verband eine wunde Fläche mechanisch als Fremdkörper reizen. Da nun Salol für sich allein ohne Zusatz schwer fein zu pulvern ist, oder sich wenigstens sehr rasch wieder zu gröberen Partikelchen vereinigt, so ist es schon zu dem Zwecke, feine und als solche haltbare Pulver zu bekommen, wichtig, das Salol mit einer nicht zu geringen Menge eines feinpulverigen, indifferenten Constituens (Talk, Lycopodium oder Amylum) zu versetzen. Man erhält dann Pulver, welche allen Anforderungen an ein gutes Streupulver entsprechen. In ähnlicher Weise könnte natürlich ein auf ungeschickte Weise mit Salol imprägnirter Verbandstoff, wenn in demselben das Salol in grösseren Kryställchen zur Ausscheidung gelangt ist, mechanisch reizen. Auf alle Dinge muss bei der äusseren Anwendung des Salols geachtet werden, und ganz besonders möchte ich diese Winke denjenigen zur Berücksichtigung empfehlen, welche bei der Behandlung frischer Operationswunden das Salol in ähnlicher Weise verwerthen möchten wie das Jodoform. Ich habe in dieser Beziehung als innerer Mediciner keine Erfahrungen sammeln können, einige mir bekannt gewordene Versuche in dieser Richtung sind ohne Cautelen in Betreff der erwähnten Umstände ausgeführt worden, ihre Resultate (angebliche Reizung der Wunde) können deshalb ebenso wenig ohne Weiteres verwerthet werden als das voraussichtliche Resultat eines Verbandes einer frischen Wunde mit concentrirter Carbolsäure jemals gegen die Lister'sche Methode hätte verwerthet werden dürfen. Diese Versuche müssen eben mit einer gewissen Kritik und Consequenz ausgeführt werden, wenn sie etwas beweisen sollen und man muss die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Salols dabei nicht ausser Acht lassen, sonst sind schlechte Resultate nicht nur zu fürchten, sondern auch mit Sicherheit vorauszusehen. Ich sage dies alles, ohne dem Salol eine chirurgische Zukunft versprechen zu wollen. Ich glaube aber doch, dass die theoretischen Gründe wenigstens den Versuch nahe legen, und möchte für diesen Fall vor unzweckmässiger Anordnung der Experimente warnen.

Für alle diese Fragen aber, auch für die innere Anwendung des Salols und verwandter Ester, sind die Versuche, welche unter Nencki's Leitung in Bern vorgenommen wurden, um die Frage, unter welchen Verhältnissen Salol sich spaltet und in Folge dessen kräftigere antiseptische Wirkungen entfalten kann, von besonderem Interesse. Herr Leśnik wird in seiner Inauguraldissertation über diese Experimente eingehend referiren und es sei mir nur gestattet, im Einverständniss mit den Herren Nencki und Leśnik die Hauptresultate hier kurz mitzutheilen.

Da die von Frau Dr. Simanowski angestellten Versuche über das Verhalten des Salols zum pankreatischen Safte, welche auf dem Nencki'schen Labora-

torium bald nach der Entdeckung des Körpers ausgeführt wurden, noch nicht publicirt sind, so ist es vielleicht für die Leser nicht ohne Interesse, die Ergebnisse derselben hier zunächst zu erfahren.

Es wurden am 27. Mai 1883 je 20 g kleingehackter Pankreas mit je 10 g Wasser zu einem Brei angerührt und nach Zusatz verschiedener Mengen Salol bei Bruttemperatur sich selbst überlassen. Fünf solchen Proben wurden folgende Mengen gepulverten Salols zugesetzt:

Nr. I enthielt 0.2 Salol
II „ 0.15 „
III „ 0.1 „
IV „ 0.05 „
V „ 0.02 „

28. Mai Nr. V stark faulig.
IV schwach faulig. Spärliche Mikroben.
III, II u. I keine Veränderung.

29. Mai IV stark faulig.
III „ „
II spärlich } Mikroben.
I ganz vereinzelt }

Fauliger Geruch der Probe II u. I erst am 4. Tage.

Controlproben ohne Salolzusatz sind schon nach weniger als 24 Stunden in starker Fäulniss.

Es wurden sodann die Versuche mit stärkeren Salolzusätzen wiederholt und zwar enthielt auf 20.0 Pankreas

Nr. I 2.0 Salol.
II 1.0 „
III 0.5 „
IV 0.3 „

Nach 12 tägigem Stehen der Bruttemperatur blieb in allen fünf Proben die Fäulniss aus.

Am 13. Tage sind in Nr. IV vereinzelte Bacterien, desgleichen am 15. Tage in Nr. III, doch ist ihre Menge selbst nach vierwöchentlichem Stehen, wo der Versuch unterbrochen wird, nicht vermehrt. In der Probe mit 1 und 2 g Salol blieb die Bacterienentwickelung ganz aus.

Bei einem anderen Versuch wurden drei Proben frischen Pankreas à 20.0 mit 0.3, 0.5 und 1.0 g Salol bei Bruttemperatur aufgestellt. Während eines Monats war in keiner der Proben Fäulniss zu bemerken.

Die Versuche von Nencki (Arch. f. exp. Path. und Pharmakol. **20**, 367 — Nencki's Opera omnia **1**, 822) hatten gezeigt, dass die Säureester der Phenole durch das Pankreas in ihre Componenten zerlegt werden und so liegt es nahe, anzunehmen, dass in diesen soeben mitgetheilten Versuchen die antiseptische Wirkung weniger dem Salol selbst, als vielmehr seinen Spaltungsproducten Phenol und Salicylsäure zu verdanken ist. Auch die Wirkung des innerlich verabreichten Salols beruht ja wenigstens zum Theil auf dieser Spaltung, wobei ich aber doch nicht mit Sicherheit ausschliessen möchte, dass nicht die ganz grossen Dosen Salol zum Theil als solche resorbirt werden. Es ist dies bei der fettähnlichen Natur des Körpers eine sehr naheliegende Annahme

und sie würde vielleicht auch die im Verhältniss zum Phenolcomponenten geringe Giftigkeit des Salols erklären. Die vereinzelten Fälle, wo man nach Saloldarreichung toxische Wirkungen beobachtet hat, wären vielleicht auf eine besonders lebhafte Spaltung des Körpers im Organismus zurückzuführen. Die quantitativ vollständige Spaltung des Salols im Innern des Organismus wurde allerdings durch Nencki in einzelnen Fällen nachgewiesen, allein es handelte sich doch nur um kleinere Dosen (3.0 bis 5.0 g).

Ausser der Spaltung des Salols durch Pankreas wurde nun durch Herrn Leśnik auf dem Nencki'schen Laboratorium in neuerer Zeit auch das Verhalten des Salols zu anderen organischen Substanzen mit Rücksicht auf seine Spaltbarkeit studirt. Zunächst untersuchte Herr Leśnik das Verhalten des Salols gegen Speichel. Der Versuch wurde in folgender Weise angestellt:

Es wurden 14 ccm menschlicher Speichel und 80 ccm Wasser gemischt und dieser Mischung 5 ccm einer 10 proc. alkoholischen Salollösung zugesetzt. Die durch das Ausfallen des Salols entstehende Emulsion wurde bei Bruttemperatur sich selbst überlassen. Eine nach 5 Stunden durch Thierkohle abfiltrirte Probe gab mit Eisenchlorid eine schwache violette Färbung. Es beweist dies, dass durch den Speichel eine gewisse Menge des Salols zerlegt wurde, denn längere Zeit mit Salol geschütteltes und abfiltrirtes Wasser giebt diese der Salicylsäure angehörige Reaction nicht, ebenso wenig wie die alkoholischen Salollösungen, welche sich mit Eisenchlorid vielmehr tief braunroth färben. Nach 24 Stunden gab der Speichel eine starke violette Reaction. Dabei reagirte die Flüssigkeit neutral und roch nach salicylsaurem Aethyl. Nach 3 Tagen hatte sich das Salol in Form öliger Tropfen am Boden abgesetzt, die Eisenchloridreaction war intensiver und ebenso der gaultheriaöl-ähnliche Geruch. Eine ohne Speichelzusatz aufgestellte, im übrigen ganz gleich behandelte Controlemulsion zeigte nach dreitägigem Stehen bei Bruttemperatur keine Veränderung.

Es ergab sich somit, dass auch dem Speichel das Vermögen, wenn auch in geringem Maasse, zukommt, Salol bei Bruttemperatur zu spalten. Dabei muss es dahingestellt bleiben, ob die Spaltpilze, Fermente oder ob die sonstigen organischen Bestandtheile des Speichels die Spaltung bewirken. Bemerkenswerth ist es, dass die Spaltung auch nach mehrtägigem Stehen nur gering war und jedenfalls nur wenige Procent der Gesammtmenge Salol betraf. Immerhin erklären diese Versuche die nun schon von verschiedenen Seiten bestätigte antiseptische resp. entwickelungshemmende und desodorisirende Wirkung von Salolmundwässern. Die in den Falten der Schleimhaut und zwischen den Zähnen deponirten Saloltheilchen entwickeln durch den Speichel allmählich Phenol und Salicylsäure.

Weitere Versuche bezogen sich auf das Verhalten von Salol zum Magensaft.

Frisch abpräparirte Mucosa eines Schweinemagens wurde mit ein Liter physiologischer Kochsalzlösung zu einem Brei angerührt. Der einen Hälfte dieses Breies wurde soviel Salzsäure und alkoholische Salollösung zugesetzt, dass sie 0.2 Proc. Säure und 1.0 Proc. Salol, der anderen soviel, dass sie 0.2 Proc. Säure und 1.5 Proc. Salol enthielt. Die beiden Mischungen blieben bei Bruttemperatur sich selbst überlassen. Das Resultat war folgendes:

1.0 Proc. Salol.	1.5 Proc. Salol.
Nach 24 Stunden:	
Flüssigkeit stark faulig. Reaction stark sauer. Die filtrirte Masse wird mit Eisenchlorid schwach violett gefärbt.	Nicht faulig. Reaction sauer. Keine Mikroben. Starke Violettfärbung der Masse mit Eisenchlorid.
Nach 48 Stunden:	
Flüssigkeit stark faulig. Intensivere Färbung mit Eisenchlorid. Reaction schwach sauer.	Nicht faulig. Reaction sauer. Intensivere Violettfärbung mit Eisenchlorid. Geruch nach salicylsaurem Aethyl.
Nach 4 Tagen:	
Idem.	Idem.
	Nach 6 Tagen beginnende Fäulniss.

Um zu entscheiden, ob Salzsäure und Pepsin als solche im Stande seien, Salol zu zerlegen, oder ob hierzu in dem soeben beschriebenen Versuch das Gewebe der Magenmucosa beziehungsweise Spaltpilze nöthig seien, wurde noch folgender Versuch angestellt.

1.0 g käufliches Pepsin wurde mit 100 ccm 0.2 proc. HCl vermengt und der Mischung soviel alkoholische Salollösung zugesetzt, dass die Emulsion 1 proc. wurde.

Nach dreitägigem Stehen bei Bruttemperatur gab die filtrirte Flüssigkeit keine Salicylsäurereaction. Ein Controlversuch mit Carminfibrin ergab, dass das verwandte Pepsin ein wirksames Präparat war.

Es geht aus diesem Versuche hervor, dass es nicht sowohl das Pepsin des Magensaftes ist, welches mit Beihülfe der Salzsäure das Salol spaltet, sondern vielmehr entweder die organische Substanz der Magenmucosa resp. ihre zelligen Elemente oder aber die Spaltpilze. Dass in der That gerade die Spaltpilze wahrscheinlich durch Bildung eines Enzyms im Stande sind, Salol zu spalten, wird durch folgende Versuche wahrscheinlich gemacht.

Käufliches Serumeiweiss wird mit seinem 20 fachen Gewicht Wasser bei Bruttemperatur stehen gelassen. Nach 30 Stunden sehr starke Fäulniss. Die Flüssigkeit wird in zwei Hälften getheilt und die eine derselben mit alkoholischer Salollösung bis zu einem Gehalt von 1 Proc., die andere bis zu einem Gehalt von 2 Proc. Salol versetzt. Nach weiteren 24 Stunden ist der faulige Geruch in beiden Proben völlig verschwunden. Sie riechen beide nach salicylsaurem Aethyl, enthalten noch ziemlich viel bewegliche Bacterien und geben mit Eisenchlorid starke violette Reaction. Am folgenden Tage noch stärkere Reaction, der grösste Theil der Bacterien unbeweglich.

Um zu entscheiden, ob in diesem Versuch, wie es von vornherein wahrscheinlich war, wirklich die Spaltpilze Schuld an der Zersetzung des Salols sind, wurde von Prof. Nencki noch folgender exactere Versuch ausgeführt, in welchem das Verhalten des Salols zu sterilisirten einerseits und zu verfaulten organischen Substanzen andererseits geprüft werden sollte.

Zu diesem Zwecke wurden einerseits mehrere Proben mit 10 ccm sterilisirter und andererseits mehrere Proben mit ebenso viel verfaulter Peptonnährgelatine mit

je 0.1 g Salol versetzt und bei einer Temperatur von 37° im Thermostaten 18 Stunden stehen gelassen. Die Proben der sterilen Nährgelatine mit Salol geben nach dieser Zeit keine Eisenchloridreaction, welche auf Zerlegung des Salols gedeutet hätte. Drei von den verfaulten Proben dagegen gaben starke Salicylsäurereaction, die vierte, welche auffallend stark nach Schwefelwasserstoff roch, allerdings ebenfalls nicht.

Wenn auch durch diesen Versuch deutlich nachgewiesen wird, welche grosse Bedeutung dem Spaltpilz für die Zerlegung des Salols zukommt, so zeigt der folgende Versuch, dass unter Umständen auch todte organische Substanz Salol spalten kann.

10 ccm sterilisirter Nährgelatine wurden mit 0.1 g Salol zwei Minuten lang gekocht, und sodann ebenfalls 18 Stunden lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Diese Probe gab nach dieser Zeit eine schwache Reaction von Salicylsäure.

Es ist hervorzuheben, dass diese Zerlegung verschwindend klein ist gegenüber der durch Spaltpilze, namentlich aber gegenüber der durch Pankreas bedingten.

Immerhin muss auf die Zerlegung des Salols durch organische Substanzen und durch Spaltpilze die antiseptische Wirkung zurückgeführt werden, welche dem Salol bei seiner Mischung mit feingehacktem Fleisch in folgenden Versuchen, welche von Frau Dr. Sieber angestellt wurden, zukommt.

1. 1.0 Salol wurde gemischt mit 10 Wasser und 10.0 feingehacktem Fleisch und die Mischung in den Brutofen gebracht.

Nach 24 Stunden vereinzelte Coccen.

Nach 2 × 24 Stunden vereinzelte Coccen und wenige Stäbchen.

Nach 4 × 24 Stunden Fäulnissgeruch.

2. 2.0 Salol + 20.0 Wasser + 10.0 feingehacktes Fleisch. Bruttemperatur.

Nach 24 Stunden spärliche Coccen, kein Geruch.

So blieb die Sache während eines Monats, ohne dass sich die Coccen vermehrten; dabei wurde zur Verhinderung des Austrocknens von Zeit zu Zeit etwas Wasser zugesetzt.

Mit Rücksicht auf die praktische Verwendbarkeit des Salols in Salbenform und in öliger Lösung wurde der Versuch von Frau Dr. Sieber noch in der Weise angestellt, dass man das Salol in öliger Lösung zusetzte. Bekanntlich wurde nämlich durch Koch gefunden, dass die Antiseptica für die Desinfection in öliger Lösung wenig oder gar nichts leisten. Für die Entwickelungshemmung gilt dies wohl auch für die übrigen Antiseptica nicht in strenger Weise, namentlich aber scheint es nicht zu gelten für das Salol, welchem selbst Fettnatur zukommt. Der Versuch war folgender:

1.0 Salol wurde in 5.0 Ol. amygdalarum dulc. gelöst, mit 20.0 gehacktem Fleisch in Bruttemperatur gebracht.

Nach 24 Stunden einzelne Coccen.

Nach 2 × 24 Stunden leicht ranziger Oelgeruch, aber kein Fäulnissgeruch. Vereinzelte Colonien von Coccen, keine Stäbchen.

So blieb die Sache während zwei Wochen, ohne dass das Fleisch Fäulnissgeruch annahm. Es wurde dann aus dem Oele herausgenommen, mit destillirtem Wasser lange ausgewaschen und wieder in Bruttemperatur gebracht. Nach weiteren drei Wochen ebenfalls keine Veränderung.

Dieser Versuch wurde mehrmals mit dem nämlichen Resultat wiederholt.

Es geht daraus hervor, dass das Salol auch in öliger Lösung eine kräftige entwickelungshemmende Wirkung auf Bacterien ausübt. Ja es schien fast, als ob das Salol in Oel gelöst eher stärker wirke als in Pulverform, was wohl nur auf die gleichmässigere Mischung der öligen Lösung mit dem Fleisch zurückgeführt werden kann. Die entwickelungshemmende Wirkung des Salolöls ist dabei um so höher anzuschlagen, als bei dem beschriebenen Versuch das Salolöl naturgemäss sich am Boden des Schälchens ansammelte, beziehungsweise aus dem Fleischgemenge ausfloss, so dass in Wirklichkeit in dem Fleisch bei dem Oelversuch weniger Salol verblieb als da, wo das Salol in Pulverform beigemengt wurde. Dafür dürfte bei dem Oel, wie schon bemerkt, der Vortheil der feinen Vertheilung und gleichmässigen Beimengung wesentlich in Betracht fallen, denn es ist selbstverständlich und es ergab sich auch direct aus unseren Beobachtungen, dass ein unlösliches Antisepticum um so besser wirkt, je feiner vertheilt und je inniger es mit der organischen Substanz gemengt ist.

Wenn auch aus den angeführten Versuchen die kräftige entwickelungshemmende Wirkung des Salols hervorgeht, so zeigen doch die quantitativen Verhältnisse gleichzeitig, dass der Körper in dieser Beziehung der Wirkung gleicher Gewichtsmengen Phenol und Salicylsäure nachsteht, was begreiflich erscheint, wenn man berücksichtigt, dass die Wirkung des Salols im Wesentlichen auf der Wirkung der abgespaltenen Componenten beruht. Bei der Allmählichkeit dieser Abspaltung ist von einer secundären, die Pilze direct vernichtenden Wirkung des Salols durch Vermittelung der abgespaltenen löslichen Componenten nicht viel zu erwarten und es zeigte sich denn auch, wie vorauszusehen war, dass Milzbrandsporen, welche 24 Stunden mit einer 5 proc. Salolemulsion in Berührung waren, sich noch vollkommen lebenskräftig erwiesen. Es kann nicht genug hervorgehoben werden, dass also auch eine secundäre Desinfection mit Salol durch seine löslichen Zersetzungsproducte, wenn sie auch theoretisch möglich erscheint, doch praktisch kaum in Betracht kommt. Es darf dies nicht befremden, wenn man sich erinnert, wie wenig nach Koch auch die Salicylsäure und das Phenol dem Postulate einer absoluten Desinfection entsprechen, und wie auch in Phenol- und Salicylsäurelösungen Milzbrandsporen lange Zeit lebensfähig bleiben.

Die Vergleichung der Spaltung des Salols durch Pankreas einerseits und durch todte organische Substanz und Speichel andererseits ergiebt, dass doch die erstere quantitativ sehr viel beträchtlicher ausfällt. Ist das Salol mit dem Pankreasgewebe innig verrieben, so wird die quantitative Spaltung, wie sie von Nencki für andere Säureester der Phenole nachgewiesen wurde (Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **20**, 381 — Nencki's Opera omnia **1**, 833), schon in sehr kurzer Zeit vollendet. Es lässt sich dies nachweisen, indem man die Masse filtrirt, verdunsten lässt, den Rückstand mit Aether extrahirt und daraus die Salicylsäure in Substanz darstellt. Schon nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde ist bei dem Pankreasverbrauch intensive Salicylsäurereaction vorhanden, während bei allen anderen Versuchen der Nachweis des Freiwerdens von Salicylsäure viel länger auf sich warten liess. Für die innerliche Anwendung des Salols dürfte wohl bloss die Spaltung durch Pankreas wesentlich in Betracht kommen. Die Spaltung durch die anderen Factoren ist ihr gegenüber verschwindend klein.

Dagegen ist es sehr wohl möglich, dass für die äusserliche Anwendung des Salols die erwähnte langsame Abspaltung von Salicylsäure und Phenol durch die organische todte und vielleicht in noch höherem Maasse durch die lebendige Substanz, durch die Spaltpilze und vielleicht durch die im Körper circulirenden Fermente von grosser Bedeutung sind. Dazu kommt noch die Möglichkeit der Lösung des Salols in den Gewebsfetten, welche hier um so mehr in Betracht fällt, als nach den angeführten Versuchen Salol auch in öliger Lösung entwickelungshemmend wirkt.

Die Eigenthümlichkeit des Salols, durch den Pankreas gespalten zu werden, ist von Ewald[1]) auch schon zu diagnostischen Zwecken verwerthet worden. Es gelingt nach diesem Forscher mittelst Saloldarreichung bei Magenkranken Aufschlüsse über die Motilität des Magens zu erhalten. Tritt nämlich nicht schon kurze Zeit (3/4 bis 1 Stunde) nach Saloldarreichung im Urin Salicylursäurereaction auf, so kann man sagen, dass das Salol sich abnorm lange dem spaltenden Einfluss des pankreatischen Saftes entzieht, was direct auf ein abnorm langes Verweilen des Salols im Magen, beziehungsweise auf eine Schwäche der motorischen Function dieses Organes hindeutet. Denn im Magen selbst wird das Salol, wie ich es für die therapeutische Verwerthung des Körpers stets als wichtig hingestellt habe, in erheblicher Menge und in rascherer Weise unter physiologischen Verhältnissen nicht gespalten und somit auch nicht resorbirt[2]). Wenn nun auch in einem Magen, dessen Motilität gelitten hat, wo also Retention der Nahrungsmittel vorhanden ist, stets mehr oder minder beträchtliche Umsetzungen durch Spaltpilze vorkommen dürften, und diese Spaltpilze, ebenso wie vielleicht die organische Substanz der Mucosa und des Mageninhaltes etwas Salol zerlegen mögen, so ist es doch sehr wahrscheinlich, dass die Ewald'sche Probe dennoch ihre Brauchbarkeit behält, weil erstens die Zerlegung des Salols durch andere Dinge als durch Pankreas sehr wenig ausgiebig ist und weil ausserdem bei insufficienten Mägen auch die Resorptionsfähigkeit der Magenschleimhaut zu leiden pflegt.

Was nun die Zerlegung des Betols (des salicylsauren β-Naphtols) betrifft, so haben wir directe Versuche hierüber nicht angestellt, dagegen geht aus Allem hervor, dass Betol schwerer zerlegt wird als Salol. Dafür spricht nicht nur der hohe Schmelzpunkt, sondern auch die Resultate der klinischen Beobachtung nach Betolverabreichung und die antiseptischen Versuche. Diese letzteren ergeben, dass dem Betol nur eine viel geringere entwickelungshemmende Kraft zukommt als dem Salol, so dass es zu antiseptischen Zwecken kaum brauchbar erscheint.

Wenn ich aus den soeben angeführten Gründen dasjenige wiederholen muss, was ich in meiner auf die Kobert'sche Arbeit bezüglichen Mittheilung über Betol in dieser Zeitschrift gesagt habe, so möchte ich doch zum Schluss nochmals hervorheben, dass ich mitunter mit Betol bei Gelenkrheumatismen, Kopfschmerzen etc. in der Dosis von drei- bis fünfmal täglich 1.0 bis 2.0 gute Resultate erzielt habe und

[1]) Deutsche Medicinal-Zeitung 1887. Nr. 52.

[2]) Ewald selbst hat nach einer brieflichen Mittheilung an Nencki die Nichtresorption des Salols vom Magen aus für den Hund auch direct experimentell nachgewiesen. Er unterband beim Hunde den Pylorus und konnte dann nach Saloldarreichung im Urin keine Salicylsäurereaction nachweisen.

ich empfehle den Versuch mit diesem von den Patienten ohne alle Unannehmlichkeit ertragenen, absolut geschmack- und geruchlosen und dabei sehr elegant krystallisirenden Körper in all' denjenigen Fällen, wo ausnahmsweise Salol in zulässiger Dosis nicht ertragen wird. Will man Betol in comprimirter Form verwenden, so ist es noch viel wichtiger als beim Salol, dass man nicht zu fest comprimirt und dass man dem Präparat ein indifferentes lösliches oder quellendes Constituens zusetzt (Amylum oder Milchzucker), da die Tabletten sonst sicher unverändert abgehen.

Ueber die Spaltung des Salols durch Alkalicarbonate und thierische Gewebe

von

M. Nencki.

Therapeutische Monatshefte, November.

In der Augustnummer der Therapeutischen Monatshefte S. 289 haben die Herren Sievers und Ewald mitgetheilt, wie mit Hülfe des Salols die Diagnose auf das motorische Verhalten des Magens leicht und sicher zu stellen sei. In dieser Mittheilung werden auch einige Versuche über das Verhalten des Salols zu Alkalien beschrieben, welche inzwischen in der von Dr. Sahli erschienenen Publication im Septemberhefte derselben Zeitschrift nicht mehr berücksichtigt werden konnten. Ich sehe mich dadurch veranlasst, mit einigen Worten noch einmal auf den Gegenstand zurückzukommen.

Sievers und Ewald constatiren, dass Salol durch Salzsäure und Pepsin nicht gespalten wird; andererseits sind sie der Ansicht, dass das Pankreas, beziehungsweise der pankreatische Saft zur Zerspaltung des Salols nicht nöthig ist, sondern dass es genügt, das Salol in alkalischer Lösung kurze Zeit bei Zimmer- oder Körpertemperatur zu belassen, um eine Spaltung desselben zu bewirken. Es genügt, 0.5 g Salol in 100 ccm 0.1 proc. Sodalösung etwa 7 Minuten bei 40° stehen zu lassen, um eine ausgesprochene Salicylsäurereaction zu erhalten. Dasselbe, nur etwas langsamer, erfolgt auch in der Kälte. Welche Mengen des Salols dabei gespalten werden, beziehungsweise ob die Spaltung des Salols durch Alkalicarbonat eine vollständige ist, darüber haben die Herren Verfasser augenscheinlich keine Versuche angestellt. Die nachfolgenden Zahlen sollen diese Lücke ausfüllen.

Es wurden zu je 200 ccm 0.1 proc. und 0.2 proc. Sodalösung 1.9389 g beziehungsweise 1.1086 g feingepulvertes Salol zugesetzt und die Lösung in einem auf 38.5° erwärmten Thermostaten unter häufigem Umrühren 24 Stunden lang stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das unzersetzte Salol abfiltrirt, ausgewaschen, getrocknet und zurückgewogen. Die Differenz des Gewichtes ergab jetzt die Menge des zersetzten Salols. In der Probe mit 0.1 proc. Sodalösung war diese Menge =

0.0436 g oder 2.25 Proc. in der Probe mit 0.2 proc. Lösung = 0.119 g oder 5.7 Proc. zersetzten Salols.

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich, wurden also durch das Alkalicarbonat nur wenige Procente des Salols zersetzt. Diese Zersetzung ist auch dann unvollständig, wenn die Lösung concentrirter und die Dauer länger ist. 3 g Salol wurden mit 200 ccm 5 proc. Sodalösung bei der gleichen Temperatur drei Tage lang stehen gelassen. Das Gewicht des hierbei unzersetzten Salols war ≐ 2.3808 g, danach also nur 20.64 Proc. zersetzten Salols.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, wie sich die Spaltung des Salols bei Ausschluss des Alkalis, nur durch Digestion mit dem Gewebe gestalten werde. Aus früheren Versuchen war mir bekannt, dass die Säureester der Phenole durch das Pankreas auch bei saurer Reaction gespalten werden. Andererseits fanden wir, dass Salol nicht allein durch Pankreas, sondern auch durch andere Gewebe, Spaltpilze, sowie gewisse organische Substanzen in wechselnden Mengen in Phenol und Salicylsäure zerlegt wird. Es wurden daher je 50 g kleinzerhackte frische Ochsenleber, Pankreas, Schleimhaut des Magens und des Dünndarms und Muskel mit je 2 g Salol innig verrieben und mit 200 ccm 0.5 proc. Essigsäure bei der Bruttemperatur stehen gelassen. Schon nach drei- bis vierstündiger Einwirkung war in den enteiweissten und filtrirten Proben mittelst Eisenchlorids freie Salicylsäure nachweisbar. Nach 24 Stunden wurden die völlig geruchlosen, und wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, auch bacterienfreien Proben mit verdünnter Soda abgestumpft, durch Kochen enteiweisst, filtrirt und eingedampft, der Rückstand mit Salzsäure angesäuert und mit gleichen Mengen Aether extrahirt. Nach Verdunsten des Aethers und Zusatz von etwas Wasser wurde die in weissen Nadeln auskrystallisirte Salicylsäure auf tarirte Filter gebracht, getrocknet und zurückgewogen. Ich erhielt so für je 2 g Salol:

1. Bei der Digestion mit Pankreas 0.1952 g Salicylsäure = 16.27 Proc. des zersetzten Salols.

2. Bei der Digestion mit Leber 0.0773 g Salicylsäure = 6.44 Proc. des zersetzten Salols.

3. Bei der Digestion mit Darmmucosa 0.0717 g Salicylsäure = 5.97 Proc. des zersetzten Salols.

4. Bei der Digestion mit Magenmucosa 0.0612 g Salicylsäure = 5.1 Proc. des zersetzten Salols.

5. Bei der Digestion mit Muskel 0.067 g Salicylsäure = 5.58 Proc. des zersetzten Salols.

Wie man sieht, wurde in der sauren Lösung die grösste Menge der Salicylsäure durch das Pankreas gebildet. Aber auch durch die anderen Gewebe ist eher mehr Salol zersetzt worden, als ceteris paribus durch die 0.2 proc. Sodalösung; denn die zersetzte Salolmenge ist jedenfalls grösser, als die aus dem Gewichte der erhaltenen Salicylsäure berechnete, da Verluste bei der Rückgewinnung der abgespaltenen Salicylsäure aus den eiweisshaltigen Massen, Abdampfen u. s. w. unvermeidlich sind.

Um die gleichzeitige Einwirkung des Alkalis und des Gewebes beurtheilen zu können, wurde der Versuch mit folgender Modification wiederholt.

Je 50 g Ochsenpankreas, Leber, Magen- und Dünndarmmucosa und Muskel

klein zerhackt, wurden mit 2.0 g Salol verrieben, mit 200 ccm 0.2 proc. Sodalösung übergossen und bei Bruttemperatur 24 Stunden stehen gelassen. In allen fünf Proben stellte sich Fäulniss ein. Aus den enteiweissten, und wie im vorigen Versuche verarbeiteten Filtraten erhielt ich Salicylsäure:

1. Aus der Probe mit Pankreas 0.2986 g = 24.88 Proc. zersetzten Salols.
2. Aus der Probe mit Leber 0.298 g = 24.83 Proc. zersetzten Salols.
3. Aus der Probe mit Darmmucosa 0.3006 g = 25.0 Proc. zersetzten Salols.
4. Aus der Probe mit Magenmucosa 0.1335 g = 11.1 Proc. zersetzten Salols.
5. Aus der Probe mit Muskel 0.2904 g = 24.2 Proc. zersetzten Salols.

Das Resultat dieses Versuches ist in mancher Hinsicht bemerkenswerth. Es geht zunächst hieraus hervor, dass Zusatz von Soda die antiseptische Wirkung des Salols schwächt. In früheren Versuchen, wo 1 Thl. Salol auf 25 Thle. Pankreas angewendet wurde, blieb die Fäulniss vollständig aus. Die abgespaltene Salicylsäure als Natronsalz wirkt nicht mehr entwickelungshemmend. Sodann ist die Menge des zersetzten Salols, jetzt wo die Spaltpilze, Alkali und Gewebe gleichzeitig wirkten — Verhältnisse, wie sie eben im Darme vorhanden sind — etwa fünfmal grösser, als wenn das Alkali oder das Gewebe in saurer Lösung einzeln auf das Salol einwirkten. Es wird hier hauptsächlich die Wirkung des Gewebes durch das Alkali unterstützt; denn wie ich es früher gefunden[1]) und Dr. F. Müller[2]) bestätigt hat, ist der Antheil der Spaltpilze an der Zerlegung der Fette und der Säureester nur ein geringer. Das Auffallendste ist aber, dass es gleichgültig ist, ob Pankreas oder Leber, resp. Muskel bei Gegenwart von Alkalicarbonat auf Salol einwirken. Mit Ausnahme des Magens, wo die saure Schleimhaut die unterstützende Wirkung des Alkali abschwächte, war die Menge der erhaltenen Salicylsäure in den übrigen vier Versuchen fast dieselbe. Die fettspaltende Wirkung ist nicht allein dem Pankreas, sondern auch anderen Geweben eigen. Die Annahme ist gerechtfertigt, dass auch die Glyceride der gewöhnlichen Fettsäuren in den verschiedensten Organen unseres Körpers immerfort gespalten werden, und ich werde die darauf bezüglichen Versuche demnächst anstellen. Allem Anscheine nach kommt diese fettspaltende Wirkung nur den zelligen Elementen zu, dafür sprechen die nachfolgenden Versuche.

Je 50 g frisches Eiweiss, sodann das aus den gleichen Eiern erhaltene Eigelb und 50 g defibrinirtes Ochsenblut wurden mit verdünnter Kochsalzlösung und Essigsäure in dem Verhältnisse vermischt, dass die 200 ccm der zugesetzten Flüssigkeit 0.5 proc. Essigsäure und 0.7 Proc. Na Cl enthielt. Jeder Probe wurden 2 g Salol zugesetzt und die Flüssigkeiten bei 38.6° stehen gelassen. Das Eiweiss blieb gelöst und das Eigelb bildete während der ganzen Zeit eine vollkommene Emulsion. Nach 24 Stunden wurden die Proben enteiweisst und filtrirt. In allen drei Filtraten war mittelst Eisenchlorids keine Salicylsäure nachweisbar. Sie wurden eingedampft, der Rückstand mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach Verdunsten der ätherischen Extracte erhielt ich keine Krystalle von Salicylsäure, hingegen gab der in einigen Cubikcentimetern Wasser gelöste Rückstand mit Eisenchlorid in allen

---

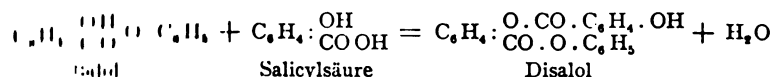
[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak. **20**, 375. — Nencki's Opera omnia **1**, 828.
[2]) Zeitschr. f. klin. Medicin. **12**, Heft 1 u. 2, S.-Abdr. S. 59.

drei Proben deutliche Violettfärbung. Es sind hier nur Spuren von Salicyls entstanden. Weder Eiweiss, noch Eigelb, noch Blut haben die esterspalte Wirkung der Gewebe. Der Versuch wurde in der Weise wiederholt, dass je Eiweiss, Eigelb und Blut mit je 2 g Salol und 200 ccm einer Lösung, die 0.2 P Soda und 0.7 Proc. NaCl enthielt, vermischt wurden. Nach 24 stündigem Ste bei der Bluttemperatur erhielt ich aus der Probe mit Eiweiss 0.0606 g Salicylsä entsprechend 5 Proc. des zersetzten Salols. Aus Eigelb wurde ebenfalls in gerin Menge Salicylsäure erhalten, jedoch derart mit Fett und Lecithin vermischt, dass Wägung nicht gut ausführbar war. Auffallend gering war die Menge der aus B und Soda erhaltenen Salicylsäure. Sie betrug 0.0077 g = 0.64 Proc. des zersetz Salols.

2 g Salol geben bei vollständiger Verseifung 1.2 g Salicylsäure. Dass ich meinen Versuchen diese theoretische Menge nicht erhalten würde, habe ich v vornherein erwartet. Es fehlte hier die fortdauernde Bewegung der Massen du die Darmperistaltik, die feine Emulsion und die Resorption. Von wesentlich Einfluss ist die Temperatur, resp. ob das Salol geschmolzen ist. Als ich 50 g Dar inhalt mit Sodalösung im Verhältniss wie in obigen Versuchen 24 Stunden la bei 42 bis 43°, wobei das Salol flüssig wurde, stehen liess, erhielt ich 0.3647 g S entsprechend [illegible] Proc. des zersetzten Salols.

Die Spaltung des Salols schon durch Alkalicarbonate wird begünstigt du seine, wenn auch nur geringe Löslichkeit in denselben. Nach unseren Bestimmun löst sich 1 Thl. Salol bei 20° in 3700 Thln. 5 proc. Sodalösung. In 0.1- bis c proc. Soda wurden dagegen selbst bei 40° nur unwägbare Spuren gelöst. W fein gepulvertes Salol mit Sodalösung von obiger Concentration geschüttelt, so gi das Filtrat mit Salzsäure übersättigt nur schwache Opalescenz und auch nach länger Stehen bildet sich kein Bodensatz. Salol enthält einen durch Metalle ersetzba hydroxylischen Wasserstoff. Auf gleiche Weise wie das Phenolnatrium kann au das Salolnatrium ein wasserlösliches, in atlasglänzenden Nadeln krystallisiren Salz [illegible] erhalten werden. Ferner kann der hydroxylische Wasserstoff durch noch Molekül Salicyl ersetzt werden. Es entsteht hierbei das Disalol nach der Gleichu

$$C_6H_4 : {OH \atop CO.O.C_6H_5} + C_6H_4 : {OH \atop COOH} = C_6H_4 : {O.CO.C_6H_4.OH \atop CO.O.C_6H_5} + H_2O$$

Salol — Salicylsäure — Disalol

Beide Präparate werden fabrikmässig dargestellt.

Wegen seiner leichten Spaltung, sowohl durch die Gewebe, wie durch (Lösungen kohlensaurer Alkalien in solchen Verdünnungen, wie sie eben in d thierischen Säften enthalten sind, scheint sich das Salol auch zum äusserlichen G brauch in der Chirurgie und Gynäkologie zu eignen. Es wird dabei ein verhältni mässig schwach desinficirendes, neutrales Mittel langsam, aber fortdauernd in se beiden stark antiseptischen Componenten zerlegt.

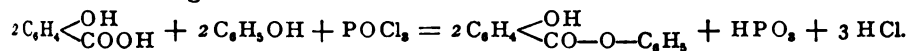
Verfahren zur Darstellung der Salicylsäureester der Phenole und Naphtole, genannt „Salole“

von

M. Nencki und **F. v. Heyden.**

D. R.-P. Nr. 38973 vom 23. April 1886, Cl. 22. Ber. **20**, 351, Ref.

Die Säureester entstehen beim Zusammenschmelzen molekularer Mengen von Salicylsäure und Phenol, Resorcin, α- und β-Naphtol, Dioxynaphtalin u. s. w. und Erwärmen der Mischung mit Phosphoroxychlorid auf 120 bis 130°. Die Reaction verläuft bei Herstellung des Salicylsäurephenolesters aus Salicylsäure und Phenol nach der Gleichung:

$$2\,C_6H_4{<}^{OH}_{COOH} + 2\,C_6H_5OH + POCl_3 = 2\,C_6H_4{<}^{OH}_{CO-O-C_6H_5} + HPO_3 + 3\,HCl.$$

Die Ester sind krystallisirbare Verbindungen, der Salicylsäurephenolester schmilzt bei 43°, der Salicylsäureresorcinester bei 111°, der Ester aus Salicylsäure und α-Naphtol bei 83° und aus β-Naphtol bei 95°. Durch Alkalien und durch gewisse Enzyme werden die Aether in ihre Componenten zerlegt. Die Herstellung der Ester verläuft glatter, wenn man die Natriumverbindungen oder überhaupt die Metallverbindungen der Salicylsäure oder Phenole anwendet. Anstatt des Phosphoroxychlorids eignet sich auch das Phosphorpentachlorid für das Verfahren. Anstatt der freien Salicylsäure kann man auch das bei der Salicylsäurefabrikation erhaltene rohe Reactionsgemisch mit Phosphoroxychlorid oder Phosphorpentachlorid behandeln. Man kann demnach zur Darstellung von Salicylsäurephenolester entweder Phenolnatrium mit Kohlensäure behandeln oder Kohlensäurephenyläther, Natronhydrat und Phenol erhitzen und das erhaltene Reactionsgemisch mit Phosphoroxychlorid u. s. w. erhitzen.

Ueber einige Ester der Salicylsäure und ihr Verhalten im Organismus

von

M. Leśnik.

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **24**, 167. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **17**, 86.

Verf. untersuchte zunächst das Verhalten des salicylsauren α- und β-Naphtols, welche beide leicht nach der Methode von Nencki aus ihren Componenten und Phosphoroxychlorid erhalten wurden. Nach Analogie mit dem benzoësauren und salicylsauren Phenol [1]) war zu erwarten, dass diese Ester im Organismus in Salicyl-

[1]) Arch. f. experim. Path. und Pharm. **20**, 367. — Nencki's Opera omnia **1**, 822.

säure und Naphtol gespalten würden, von denen dann erstere als Salicylursäure, letztere zum Theil als Naphtolglycuronsäure im Harn erscheinen müsste [1]. Nachdem am Hunde die Unschädlichkeit erprobt worden war, erhielt ein Mann im Laufe eines Tages 12 g β-Naphtolsalicylat. Der sich mit Eisenchlorid stark violett färbende Harn wurde verdunstet, der Alkoholextract mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt; der Extract erstarrte bald zu Krystallen von Salicylursäure, wie die Elementaranalyse auswies. In einem zweiten Versuche, den Verf. an sich selbst anstellte, wurde der Harn auf Naphtolglycuronsäure verarbeitet [2], welche leicht an ihren Eigenschaften erkannt werden konnte. Daneben wurde in den Mutterlaugen der Naphtolglycuronsäure noch eine zweite Säure aufgefunden, welche auch aus dem Harn nach Salolgebrauch isolirt werden konnte. Dieselbe ist in Wasser leichter löslich als die Salicylursäure, giebt mit Eisenchlorid eine tief violette Färbung, löst sich auch leicht in Alkohol, wenig in Aether und schmilzt bei 163°. Die Elementaranalysen führten zur Formel $C_{21}H_{22}N_2O_9$, was der doppelten Formel der Salicylursäure + C_3H_4O (Tartronsäurerest) entsprechen würde, doch lässt Verf. die Frage offen, ob hier nicht ein verunreinigter Körper vorliegt. — Weitere Versuche erstreckten sich auf die Einwirkung von Speichel, Magensaft und den Fäulnissbacterien auf Salol. In allen Fällen konnte eine Spaltung des Salols nachgewiesen werden, doch scheint dieselbe nicht exclusiv durch die Enzyme, sondern auch durch die sich entwickelnden Spaltpilze bewirkt zu werden; das Salol hat auch nur eine sehr geringe entwickelungshemmende Wirkung und entfaltet dieselbe erst in dem Maasse, als es sich in seine Componenten, Salicylsäure und Phenol, spaltet. — Verf. hat auch noch das salicylsaure Thymol, das salicylsaure α-Dioxynaphtalin, $C_{10}H_6(O.CO.C_6H_4.OH)_2$, sowie das salicylsaure Hydrochinon, $C_6H_4(O.CO.C_6H_4.OH)_2$, dargestellt. Auch diese, ebenso wie das kohlensaure Phenol, $CO(O.C_6H_5)_2$, wurden im Darm in ihre Componenten gespalten.

Ueber das Verhalten der drei isomeren Nitrobenzaldehyde im Thierkörper

von

N. Sieber und **A. Smirnow.**

Monatsh. f. Chem. 8, 88. — Nach dem Referate von
Prof. R. Andreasch, Maly's Jahresber. 17, 89.

Einem Hunde von 22 kg Körpergewicht wurden die reinen Aldehyde in täglichen Dosen von 2 bis 3 g, in Fleisch eingewickelt, gegeben; grössere Dosen verursachten Erbrechen und Durchfälle. Paranitrobenzaldehyd. Der nach Verfütterung von 15 g erhaltene Harn wurde am Wasserbade concentrirt, von

---

[1] Ber. 19, 1534. — Dieser Band S. 24.

[2] Ebenda.

Phosphaten u. s. w. abfiltrirt, zum Syrup verdunstet, mit Alkohol gefällt, das alkoholische Filtrat abermals eingeengt und nach dem Erkalten mit Salzsäure versetzt. Bald bildeten sich reichlich Krystalle (12 g), die nach dem Umkrystallisiren den Schmelzpunkt 180° zeigten und durch die Analyse und Eigenschaften als paranitrohippursaurer Harnstoff, $C_9H_8N_2O_5CON_2H_4$, erkannt werden konnten. Metanitrobenzaldehyd. Der Hund erhielt 2 g pro die sechs Tage lang; der Harn wurde wie früher verarbeitet. Die nach Zusatz von Salzsäure und Abkühlen auf 0° erhaltenen Krystalle erwiesen sich als Metanitrohippursäure:

$$C_6H_4<^{NO_2}_{CO.NH}\cdot CH_2\cdot CO_2H.$$

Orthonitrobenzaldehyd. Der gleiche Hund erhielt vier Tage hinter einander je 2 g des Aldehyds und der hierauf gelassene Harn wurde gleich wie früher verarbeitet; da der Harnsyrup auf Zusatz von Säure keine Ausscheidung ergab, wurde mit Aether extrahirt und hierdurch reine Orthonitrobenzoësäure erhalten. In allen drei Fällen erwies sich die Menge der gepaarten Schwefelsäuren nicht (oder im letzten Falle nur unbedeutend) vermehrt; Glycuronsäure oder überhaupt andere Verbindungen als die angeführten konnten nicht nachgewiesen werden.

Ueber das Vorkommen der Milchsäure im Blute und ihre Entstehung im Organismus

von

M. Berlinerblau.

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **23**, 333. — Nach dem Referate von Prof. J. Horbaczewski. Maly's Jahresber. **17**, 145.

Zur Bestimmung der Milchsäure wurde Blut mit der vierfachen Menge absoluten Alkohols gefällt, filtrirt, das Coagulum mit Alkohol gewaschen und ausgepresst. Nach dem Abdestilliren des Alkohols wurde der wässerige Rückstand am Wasserbade concentrirt, mit Schwefelsäure vorsichtig angesäuert, wodurch Fettsäuren und Eiweiss gefällt werden, und filtrirt, hierauf das Filtrat sechs- bis achtmal mit Aether ausgeschüttelt und der Rückstand nach dem Abdestilliren des Aethers mit Baryumcarbonat neutralisirt. Die filtrirte Flüssigkeit wurde concentrirt, mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wurde der Rückstand mit Wasser und Zinkoxyd gekocht, filtrirt, bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft und im Exsiccator getrocknet. Das so erhaltene Zinklactat war meistens schon nach dieser Behandlung rein und wurde noch auf den Krystallwasser- und Zinkgehalt geprüft. Zunächst untersuchte Verf. Blut normaler Thiere (Kaninchen, Hunde) und fand in demselben constant Milchsäure,

womit die Angaben von Gaglio[1]) bestätigt erscheinen. Auch im venösen Menschenblut wurden 0.071 Proc. Milchsäure gefunden. Weitere Versuche wurden angestellt, um die Frage zu entscheiden, aus welchen Stoffen sich Milchsäure bildet. Zu diesem Zwecke wurden Hintertheile von Thieren (Kaninchen, Hunde) durchblutet und untersucht, ob sich aus Verbindungen, die dem bei der Durchblutung verwendeten Blut zugesetzt waren, Milchsäure bildet. In dieser Hinsicht wurden geprüft: Dextrose, Glycogen, Propionsäure und Buttersäure (als Natronsalze) — diese letzteren aus dem Grunde, weil sich flüchtige Fettsäuren bei der Oxydation von Eiweiss reichlich bilden und weil es möglich war, dass sich dieselben durch Oxydation in Milchsäure umwandeln, ähnlich wie Benzol zu Phenol oxydirt wird. In den meisten Fällen wurde das Hintertheil des Thieres vor der Durchblutung und nach Beendigung derselben mit auf 40° C. erwärmter 0.6 proc. Kochsalzlösung ausgewaschen. Die letztere Waschflüssigkeit wurde mit dem durchgeleiteten Blut auf Milchsäure untersucht. Vorerst wurde noch constatirt, dass schon nach einmaliger Durchleitung des Blutes durch das Präparat die Milchsäuremenge desselben um etwa 50 Proc. steigt. Die erhaltenen Resultate sind folgende:

Versuch	Versuchsthier	Dauer der Durchleitung	Analysirte Blutmenge nach der Durchleitung	Zusatz zum Blut	Erhaltene Milchsäuremengen	
		Stunden	ccm		g	in Proc.
I	Kaninchen	$3^1/_2$	112	—	0.1307	0.1167
II	„	3	90	—	0.0753	0.0840
III	„	3	175	—	0.2383	0.1366
IV	„	2	50	0.8 g Dextrose	0.0807	0.1615
V	Hund	3	300	—	0.5510	0.1825
VI	„	3	360	0.75 g Glycogen	0.6965	0.2325
VII	„	3	600	1.0 „ „	0.9090	0.1516
VIII	„	3	150	0.5 „ „	0.4640	0.3093
IX	„	3	260	1.0 „ Dextrose	0.7248	0.2787
X	„	3	300	1.5 „ propions. Natron	0.3296	0.1100
XI	„	5	450	2.0 „ butters. Natron	0.3115	0.0690

Es wurde daher nach Zusatz von Dextrose zum Blut beim Kaninchen und beim Hunde eine Vermehrung der Milchsäure gefunden, was auch nach Zusatz von Glycogen in zwei Versuchen am Hunde (VI, VIII) constatirt werden konnte. Im Versuche VII, in welchem dem Blut auch Glycogen zugesetzt war, ist dagegen eine noch kleinere Milchsäuremenge als normal erschienen. Verf. meint, dass der Grund dieser Erscheinung darin liegt, dass in diesem Versuche eine relativ sehr grosse Blutmenge verwendet wurde, die in der gleichen Zeit bei der Durchblutung mit dem Gewebe viel weniger in Berührung war. Bei der Durchleitung wird das Glycogen zum Theil unzweifelhaft zunächst in Dextrose, dann erst in Milchsäure umgewandelt,

[1]) Arch. f. Anatomie u. Physiologie 1886, S. 400.

weil ein nach Zusatz von Glycogen durchgeleitetes Blut immer stark zuckerhaltig war. Verf. schliesst aus seinen Versuchen, dass die Kohlehydrate der Gewebe (speciell Glycogen) sehr wahrscheinlich Muttersubstanzen der Milchsäure im Blut sind, obgleich auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass die Milchsäure aus Eiweiss entsteht. Die Versuche X, XI sprechen dagegen dafür, dass im Körper aus flüchtigen Fettsäuren (Propionsäure, Buttersäure) keine Milchsäure entsteht. Sie wurden im durchgeleiteten Blut grösstentheils unverändert wieder gefunden.

Ueber die Einwirkung der Aldehyde auf Rhodanammonium

von

L. Brodsky.

Monatsh. f. Chem. 8, 27 und Inaug.-Dissert. Bern. — Nach dem Referate von Dr. Gabriel abgedruckt. Ber. 20, 166, Ref.

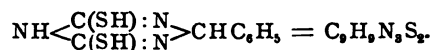
Nach Nencki und Schaffer[1]) reagiren Rhodanammonium und Chloralhydrat im Sinne folgender Gleichung: $2\,CCl_3CH(OH)_2 + 2\,CNSNH_4 = CNSH + 4\,H_2O + C_5H_5Cl_6N_3S$; die Autoren haben eine bestimmte Constitutionsformel für die krystallisirende Verbindung $C_5H_5Cl_6N_3S$ nicht aufgestellt; dazu bedurfte es weiterer Untersuchungen, namentlich war das Verhalten anderer Aldehyde gegen Rhodanammonium zu studiren, eine Aufgabe, welcher sich auf Nencki's Veranlassung der Verfasser unterzogen hat.

Die von ihm beschriebenen Versuche wurden mit Valeraldehyd, Oenanthol, Zimmtaldehyd und Benzaldehyd angestellt, jedoch nur mit letzterem liess sich eine zur Untersuchung einladende Substanz erhalten und zwar auf folgendem Wege: 70 Thle. Benzaldehyd und 100 Thle. feingepulvertes Rhodanammon werden unter Umrühren im Kolben 1 bis $1^1/_2$ Stunden auf 160° erhitzt, danach die Masse in das 20fache Volumen Wasser gegossen, das erstarrte Product einige Zeit mit Wasser stehen gelassen und alsdann mit wenig Alkohol digerirt, wobei es zu einem Krystallbrei zerfällt; selbiger besteht aus einer neuen Verbindung, Benzylidenthiobiuret, $C_9H_9N_3S_2$, welches sich fast gar nicht in Wasser, wenig in kaltem Alkohol und Aether, leichter, aber äusserst langsam in kochendem Alkohol löst, durch fixes Alkali und Baryt aufgenommen und aus dieser Lösung durch Säuren (selbst Kohlensäure) wieder abgeschieden wird; die Substanz stellt Nadeln dar, schmilzt bei 237° unter Gasentwickelung und liefert, in alkoholischer, heisser Lösung mit einer eben solchen, etwas Salpetersäure enthaltenden Silbernitratlösung versetzt, eine weisse, bald gelblich werdende Fällung von $C_9H_7Ag_2N_3S_2$. Die Diacetylverbindung des Benzylidenthiobiurets, $C_9H_7N_3S_2(C_2H_3O)_2$, wird mittelst Essigsäureanhydrids bereitet, krystallisirt in gelben, glänzenden Täfelchen, löst sich nicht in

---

[1]) Journ. prakt. Chem. 18, 430. — Nencki's Opera omnia 1, 416.

Wasser und Chloroform, leicht in Aether und heissem Wasser, weniger leicht in kaltem Alkohol, schmilzt bei 189° zu einer gelbrothen Flüssigkeit, die sich gleich weiter zersetzt. Mit Barytwasser gekocht geht der Schwefelkörper in Benzaldehyd, Rhodanwasserstoffsäure und Schwefelharnstoff ($C_9H_9N_3S_2 + H_2O = C_7H_6O + HCNS + CSN_2H_4$) resp. in die Spaltungsproducte des letzteren, Schwefelwasserstoff, Ammoniak und Kohlensäure, über. Was die Entstehung des Thiobiurets angeht, so nimmt Verfasser an, dass in der ersten Phase der Reaction ein Theil des Rhodanammons in Sulfoharnstoff und danach letzterer durch Aufnahme von Rhodanwasserstoff oder Abspaltung von Ammoniak in Thiobiuret, $C_2H_5N_3S_2$, übergegangen sei, welches dann mit Bittermandelöl nach der Gleichung $C_2H_5N_3S_2 + C_7H_6O = H_2O + C_9H_9N_3S_2$ reagirt habe; im Benzylidenthiobiuret werden, da es sich nicht leicht entschwefeln lässt und zwei durch Metall oder Acetyl ersetzbare Wasserstoffe enthält, 2 (SH) angenommen:

$$NH{<}^{C(SH):N}_{C(SH):N}{>}CHC_6H_5 = C_9H_9N_3S_2.$$

Aus Vorangehendem erhellt, dass die Einwirkung des Benzaldehyds nach einem anderen Modus verläuft als die des Chloralhydrates auf Rhodanammon. Die Natur des im letzteren Falle entstehenden Productes $C_5H_5Cl_6N_3S$ wird jedoch erklärt durch die Verbindung $C_5H_{11}N_3S$, welche nach Nencki[1]) aus Sulfoharnstoff und Aldehydammoniak entsteht, die analoge Zusammensetzung wie der aus Chloral erhaltene Körper (nämlich H_6 statt Cl_6) besitzt und mit letzterem auch im chemischen Verhalten übereinstimmt (beide werden durch Jod und Metalloxyde nicht entschwefelt, liefern Sulfoharnstoff u. s. w.). Da nun nach dem Verfasser dem Körper $C_5H_{11}N_3S$ die Constitution $CH_3.CH:N.C(SH):N.CH(NH_2).CH_3$ zukommt, so wird die Chlorverbindung $CCl_3.CH:N.C(SH):N.CH(NH_2).CCl_3$ zu formuliren sein.

Indol aus Dichloräther und Anilin

von

J. Berlinerblau.

Monatsh. f. Chem. 8, 180. — Nach dem Referate von
Dr. Gabriel abgedruckt. Ber. 20, 328, Ref.

Monochloraldehyd wird mit 2 Thln. Anilin am Rückflusskühler erhitzt, bis der Geruch des ersteren verschwunden ist, dann das entstandene Wasser abdestillirt und der Rückstand einige Stunden auf 210 bis 230° erhitzt, danach das entstandene Indol mit Wasserdampf abgeblasen. Man kann statt des Chloraldehyds den viel billigeren Dichloräther (welcher mit Wasser Chloraldehyd liefert) benutzen und zwar wie folgt: 50 g Anilin werden in einem geräumigen Kolben mit dem gleichen Volumen Wasser zum Kochen erhitzt und darauf 25 g Dichloräther allmählich

---

[1]) Ber. 7, 162. — Nencki's Opera omnia 1, 78.

zugetröpfelt, nach etwa einstündigem Kochen Wasser und Anilin abdestillirt, der Rückstand vier bis sechs Stunden auf 210 bis 230° erhitzt und wie oben das Indol abgetrieben. Die Reaction lässt sich formuliren: $C_6H_5NH_2 + CH_2Cl.COH = C_8H_7N + H_2O + HCl$. Aehnlich wie Anilin verhalten sich die Homologen desselben. Als Zwischenproducte bilden sich unter Wasseraustritt amorphe Verbindungen, welche wahrscheinlich die Constitution $CH_2Cl.CH:NR$ besitzen und mit einem zweiten Molekül Base reagirend amorphe Producte von der Formel NHR.CH.CH:NR liefern; letztere bilden unter Austritt von NHR (nicht NR) das Indol. (Vergl. das folgende Referat.) Die Ausbeute an Indolen bleibt weit hinter der theoretischen zurück; am besten ist sie bei directer Einwirkung von Chloraldehyd oder Bichloräther auf vier Moleküle Base.

Ueber die bei der Indolbildung aus Dichloräther und aromatischen Aminen entstehenden Zwischenproducte

von

J. Berlinerblau und **H. Polikier.**

Monatsh. f. Chem. 8, 187. — Nach dem Referate von Dr. Gabriel abgedruckt. Ber. 20, 329, Ref.

Monochloräthylidenanilid, $CH_2Cl.CH:NC_6H_5$, scheidet sich als amorpher, weisser Niederschlag aus, wenn man 1 Thl. Dichloräther und 2 Thle. Anilin in $^1/_2$- bis $^3/_4$ proc. wässeriger Lösung zusammenbringt. (Der Dichloräther war zunächst in dem gleichen Volumen Wasser gelöst, die Lösung verdünnt, 15 bis 30 Minuten gekocht und dann abgekühlt worden.) Die Substanz schmilzt bei 86 bis 87°, löst sich leicht in Alkohol, schwieriger in Aether, nicht in Wasser, und verwandelt sich beim Trocknen bis zur Gewichtsconstanz, wahrscheinlich unter Polymerisation, in ein rothbraunes, bei 135 bis 136° schmelzendes Pulver. Wird in den geschmolzenen Körper Ammoniak geleitet, so entstehen Spuren von Indol. Erhitzt man ihn (4 g) mit Anilin (5 g) und erwärmt, nachdem bei 140 bis 150° lebhafte Reaction stattgefunden hat, noch kurze Zeit, so giebt der braunrothe Rückstand mit heissem Alkohol eine Lösung, aus der sich beim Erkalten Anilidoäthylidenanilid, $CH(NC_6H_5).CH_2.NHC_6H_5$, als amorpher, brauner Niederschlag abscheidet. Die Substanz löst sich ziemlich leicht in Alkohol und Aether, und schmilzt bei 103 bis 105°, kann auch direct aus 1 Thl. Dichloräther und 4 Thln. Anilin erhalten werden und giebt beim Erhitzen Indol. Monochloräthyliden-p-toluid, $CH_2Cl.CH:NC_6H_4.CH_3$, entsteht und verhält sich ähnlich wie das Anilid, schmilzt bei 58°, giebt mit Anilin und Toluidin chlorfreie Producte und mit Anilin bei 200 bis 230° eine indolhaltige Schmelze.

Verfahren zur Darstellung von Indol und Methylketol

von

M. Nencki und **J. Berlinerblau.**

D. R.-P. Nr. 40 889 vom 7. November 1886, Cl. 22. — Ber. 20, 753, Ref.

Durch Erhitzen von Anilin und Monochloraldehyd am Rückflusskühler, Abdestilliren des entstandenen Wassers und Erhitzen des Rückstandes auf 210 bis 240° erhält man eine Schmelze, aus welcher man mit Wasserdämpfen Indol abdestilliren kann. Anstatt des fertig gebildeten Monochloraldehyds kann man auch Dichloräther und Wasser anwenden, wodurch Monochloraldehyd sich bildet und im Entstehungszustande wirkt. Bei diesen Reactionen entstehen intermediär Chloräthylidenanilin und Aethylidendianilin; letzteres zerfällt beim Erhitzen auf 210 bis 240° in Anilin und Indol nach der Gleichung: $C_{14}H_{14}N_2 = C_6H_7N + C_8H_7N$. Behandelt man ein Gemisch von Anilin und Monochloraceton, wie oben angegeben, so entsteht Methylketol, C_9H_9N.

Ueber Sulfhydrylzimmtsäure und einige ihrer Derivate

von

S. Bondzyński.

Monatsh. f. Chem. 8, 349. — Nach dem Referate v[on] Dr. Gabriel abgedruckt. Ber. 20, 566, Ref.

Dass die aus Benzaldehyd und Rhodaninsäure, $CH_2(SH)CO.SCN$, un[ter] Wasseraustritt entstehende Benzylidenrhodaninsäure, $C_6H_5.CH:C(SH)CO.SC[N]$, durch Baryt in Rhodanwasserstoff und Sulfhydrylzimmtsäure, $C_6H_5CH:C(SH)CO_2H$, zerfällt, hat Verfasser gemeinsam mit Ginsburg bereits in den Berich[ten] 19, 113 (dieser Band S. 10) mitgetheilt. Die vorliegende Arbeit enthält genaue Beschreibung dieser Säure und einiger ihrer Derivate. Zur Darstellung [der] Benzylidenrhodaninsäure (90 Proc. Ausbeute) werden 100 g Rhodaninsäure in 50 Alkohol (90 Proc.) mit 300 g concentrirter Schwefelsäure auf dem Wasserbade [am] Rückflusskühler allmählich mit 150 g Benzaldehyd versetzt und das Reactio[ns]product aus Alkohol umkrystallisirt. Zur Ueberführung in Sulfhydrylzimmtsä[ure] (Schmelzp. 119°) wird das Product (10 g) mit Barytwasser (250 Thle.; 20 proc.) 1½ Stunden erwärmt und das klare Filtrat mit Salzsäure gefällt. In Schwefel[-]kohlenstoff gelöst und mit Jod versetzt, geht die Sulfhydrylzimmtsäure in Disulfid[-]zimmtsäure, $(C_9H_7SO_2)_2$, vom Schmelzp. 179° über. p-Nitrobenzyliden[-]

rhodaninsäure, $C_{10}H_6NS_2O(NO_2)$, wird erhalten, wenn man 10 g Rhodaninsäure und 12 g p-Nitrobenzaldehyd in 50 ccm Alkohol mit 30 g Vitriolöl $^1/_2$ bis 1 Stunde auf dem Wasserbade bis zum Erstarren der Masse erhitzt; das ausgewaschene, aus Alkohol umkrystallisirte Product bildet lange, gelbe, bei 250 bis 252° schmelzende Nadeln. Die analoge o-Verbindung wird auf dem nämlichen Wege aus o-Nitrobenzaldehyd zu 74 Proc. der Theorie erhalten, ist ebenfalls nicht in Wasser und viel leichter löslich in Alkohol als die p-Verbindung und bildet schwach gelbliche Nadeln vom Schmelzp. 188 bis 189°. Die Verseifung der beiden Nitrokörper mit Barytwasser gab wenig befriedigende Resultate. Versetzt man eine Lösung von 30 g Ferrosulfat in 80 ccm Wasser mit schwach überschüssigem Ammoniak, fügt 3 g o-Nitroverbindung (in Alkohol gelöst) hinzu, filtrirt rasch nach dem Umrühren und säuert das tiefrothe Filtrat mit Salzsäure an, so fällt ein rother Niederschlag, welcher aus Alkohol in blutrothen Krystallen anschiesst, letztere sind o-Amidobenzylidenrhodaninsäure, $C_{10}H_6NS_2O(NH_2)$ (70 Proc. der theoretischen Ausbeute), zeigen saure Eigenschaften, werden bei etwa 200° gelb, zerfallen bei 265 bis 269° und liefern mit Acetanhydrid bis zur unvollständigen Lösung gekocht, ein Mono- und ein Diacetylproduct; ersteres, $C_{10}H_7(C_2H_3O)N_2S_2O$, bleibt im Acetanhydrid ungelöst und krystallisirt aus Alkohol in gelben Nadeln vom Schmelzp. 280 bis 285°; letzteres, $C_{10}H_6(C_2H_3O)_2N_2S_2O$, krystallisirt aus verdünntem Alkohol in goldgelben, bei 189° schmelzenden Nadeln. Der Versuch, aus der o-Amidoverbindung durch Barytwasser die o-Amidosulfhydrylzimmtsäure zu erhalten, ist noch nicht gelungen.

1888

Ueber das Hämatoporphyrin

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

(Hierzu Tafel I.)

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **24**, 430. — Monats
Chem. **9**, 115. — Gazeta Lekarska No. 16, 17.

In zwei in dem Archiv für experim. Path. und Pharm.[1]) und auch Auszuge in den Berichten erschienenen Publicationen haben wir d Resultate unserer Untersuchungen über den Blutfarbstoff mitgetheilt, d wir hier zum leichteren Verständniss des Nachfolgenden recapitulire

Wir haben gezeigt: 1. Dass die Hämoglobinkrystalle durch verdünnte Säure oder Alkalien nicht allein unter Aufnahme von Sauerstoff, sondern auch des Wasser in einen Eiweisskörper — das Globin — und den farbigen Bestandtheil — da Hämatin — zerfallen. Die Menge des dabei aufgenommenen Sauerstoffs wurde in unserem Laboratorium vor Kurzem durch Herrn Dr. Lebensbaum[2]) bestimmt, wonach 100 g trockenen Oxyhämoglobins beim Zerfall in Eiweiss und Hämatin 1.1 g O_2 absorbiren.

2. Dass bei der Spaltung des Hämoglobins durch Salzsäure in amylalkoholischer Lösung der farbige Bestandtheil des Hämoglobins in Form der bekannten Teichmann'schen Krystalle erhalten wird.

Die Zusammensetzung der so erhaltenen Krystalle — des Hämins — haben wir $= (C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4C_5H_{12}O$ gefunden. Der Amylalkoholgehalt der Krystalle war ein constanter und liess sich durch anhaltendes Waschen mit Alkohol oder Aether nicht entfernen. Erst beim Trocknen der Krystalle im Luftbade bis zu constantem Gewicht bei 130 bis 135° verlieren die Krystalle den Amylalkohol vollständig. Aehnlich wie die aus der amylalkoholischen Lösung abgeschiedenen Krystalle

---

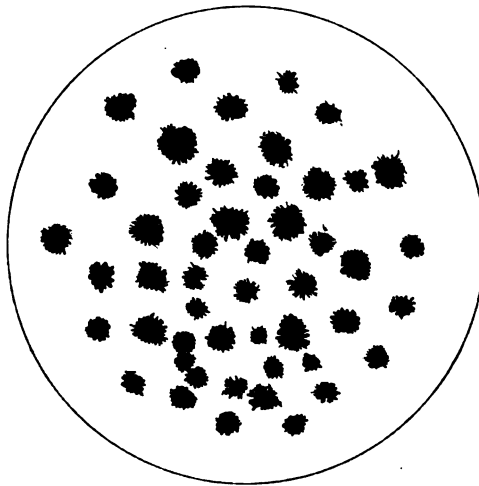
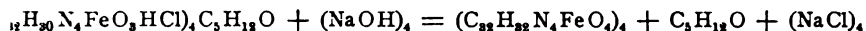
[1]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **18**, 401; **20**, 325. — Nencki's Opera omnia **1**, 745 u. 789.

[2]) Monatsh. f. Chem. **8**, 165. — Dieser Band S. 42.

Tafel I.

Fig. 1.

Fig. 2.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

ylalkohol, enthalten nach Hoppe-Seyler[1]) die durch Ausziehen des Blutes mit ssig erhaltenen Häminkrystalle Essigsäure. Durch Auflösen der Häminkrystalle erdünnten Alkalien wird unter Aufnahme von Wasser und Abspaltung von Salze und Amylalkohol das Hämin zu Hämatin nach folgender Gleichung:

$$_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4C_5H_{12}O + (NaOH)_4 = (C_{32}H_{32}N_4FeO_4)_4 + C_5H_{12}O + (NaCl)_4$$

gewandelt.

3. Hämin oder Hämatin, in concentrirter Schwefelsäure gelöst, verliert das Eisen es entsteht ein durch seine Absorptionsbänder im Spectrum ausgezeichneter bstoff — das Hämatoporphyrin.

Das durch Eingiessen der schwefelsauren Lösung in Wasser in amorphen, braunen Flocken abgeschiedene Hämatoporphyrin war in Alkohol, Aether und verunten Säuren fast unlöslich, leicht löslich in Alkalien. Der aus der alkalischen ung durch Säuren abgeschiedene Farbstoff enthält auch nach vollständigem Auschen etwas Schwefel, von geringen Mengen einer Sulfoverbindung herrührend. bei den Elementaranalysen nach Abzug der kleinen Schwefelsäuremenge erhaln Zahlen stimmten am besten zu der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$, entsprechend der einfachen Bildungsgleichung:

$$\underset{\text{Hämatin}}{C_{32}H_{32}FeN_4O_4} + H_2O - Fe = \underset{\text{Hämatoporphyrin}}{C_{32}H_{34}N_4O_5}$$

Wir betrachteten jedoch diese Formel des Hämatoporphyrins nicht als endgültig chieden. Es schien uns unwahrscheinlich, dass gerade unter dem Einfluss von centrirter Schwefelsäure, eines wasserentziehenden Agens, das Hämatin Eisen eren und Wasser in das Molekül aufnehmen sollte. Durch besondere Versuche en wir constatirt, dass beim Auflösen des Hämins oder Hämatins in concentrirter wefelsäure weder Wasserstoff entwickelt, noch Sauerstoff absorbirt wird.

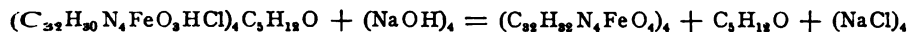
Wir werden später auf die weiteren Resultate unserer Arbeiten über den Blutstoff zurückkommen. Bekanntlich sind diese Untersuchungen von Hoppeler lebhaft angegriffen worden und in einer kürzlich erschienenen Publication agt Herr C. le Nobel[2]), dass die seit Decennien in der Chemie des Blutfarbs herrschende Verwirrung durch unsere Publicationen noch vermehrt worden ja sogar ihren Höhepunkt erreicht habe.

An der Richtigkeit der von uns aufgestellten Hämin- und Hämatinformel haben nie gezweifelt. Die Uebereinstimmung der Analysen des aus verschiedenen Blutn mit Sorgfalt dargestellten Farbstoffes war uns hinreichende Garantie dafür. Die emdende Bildung des Hämatoporphyrins aus Hämatin nöthigte uns aber zu weiteren ersuchungen, um Aufklärung über den hier stattfindenden Process zu erhalten. handelte sich darum, die allem Anschein nach leichte Abspaltung des Eisens in r glatten Reaction, namentlich unter Vermeidung von Sulfoverbindungen zu beten. Nach vielfachen Versuchen haben wir in einer gesättigten Lösung von nwasserstoff in Eisessig ein Mittel gefunden, wonach aus dem Hämin unter Abtung von Eisen glatt Hämatoporphyrin entsteht. Freilich war das so erhaltene

[1]) Ber. **18**, 603.

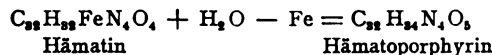
[2]) Pflüger's Archiv für Physiologie **40**, 501 (1887).

Amylalkohol, enthalten nach Hoppe-Seyler[1]) die durch Ausziehen des Blutes mit Eisessig erhaltenen Häminkrystalle Essigsäure. Durch Auflösen der Häminkrystalle in verdünnten Alkalien wird unter Aufnahme von Wasser und Abspaltung von Salzsäure und Amylalkohol das Hämin zu Hämatin nach folgender Gleichung:

$$(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4C_5H_{12}O + (NaOH)_4 = (C_{32}H_{32}N_4FeO_4)_4 + C_5H_{12}O + (NaCl)_4$$

umgewandelt.

3. Hämin oder Hämatin, in concentrirter Schwefelsäure gelöst, verliert das Eisen und es entsteht ein durch seine Absorptionsbänder im Spectrum ausgezeichneter Farbstoff — das Hämatoporphyrin.

Das durch Eingiessen der schwefelsauren Lösung in Wasser in amorphen, braunrothen Flocken abgeschiedene Hämatoporphyrin war in Alkohol, Aether und verdünnten Säuren fast unlöslich, leicht löslich in Alkalien. Der aus der alkalischen Lösung durch Säuren abgeschiedene Farbstoff enthält auch nach vollständigem Auswaschen etwas Schwefel, von geringen Mengen einer Sulfoverbindung herrührend. Die bei den Elementaranalysen nach Abzug der kleinen Schwefelsäuremenge erhaltenen Zahlen stimmten am besten zu der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$, entsprechend der ganz einfachen Bildungsgleichung:

$$\underset{\text{Hämatin}}{C_{32}H_{32}FeN_4O_4} + H_2O - Fe = \underset{\text{Hämatoporphyrin}}{C_{32}H_{34}N_4O_5}$$

Wir betrachteten jedoch diese Formel des Hämatoporphyrins nicht als endgültig entschieden. Es schien uns unwahrscheinlich, dass gerade unter dem Einfluss von concentrirter Schwefelsäure, eines wasserentziehenden Agens, das Hämatin Eisen verlieren und Wasser in das Molekül aufnehmen sollte. Durch besondere Versuche haben wir constatirt, dass beim Auflösen des Hämins oder Hämatins in concentrirter Schwefelsäure weder Wasserstoff entwickelt, noch Sauerstoff absorbirt wird.

Wir werden später auf die weiteren Resultate unserer Arbeiten über den Blutfarbstoff zurückkommen. Bekanntlich sind diese Untersuchungen von Hoppe-Seyler lebhaft angegriffen worden und in einer kürzlich erschienenen Publication beklagt Herr C. le Nobel[2]), dass die seit Decennien in der Chemie des Blutfarbstoffs herrschende Verwirrung durch unsere Publicationen noch vermehrt worden sei, ja sogar ihren Höhepunkt erreicht habe.

An der Richtigkeit der von uns aufgestellten Hämin- und Hämatinformel haben wir nie gezweifelt. Die Uebereinstimmung der Analysen des aus verschiedenen Blutarten mit Sorgfalt dargestellten Farbstoffes war uns hinreichende Garantie dafür. Die befremdende Bildung des Hämatoporphyrins aus Hämatin nöthigte uns aber zu weiteren Untersuchungen, um Aufklärung über den hier stattfindenden Process zu erhalten. Es handelte sich darum, die allem Anschein nach leichte Abspaltung des Eisens in einer glatten Reaction, namentlich unter Vermeidung von Sulfoverbindungen zu bewirken. Nach vielfachen Versuchen haben wir in einer gesättigten Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig ein Mittel gefunden, wonach aus dem Hämin unter Abspaltung von Eisen glatt Hämatoporphyrin entsteht. Freilich war das so erhaltene

[1]) Ber. **18**, 603.

[2]) Pflüger's Archiv für Physiologie **40**, 501 (1887).

Hämatoporphyrin von ganz anderen Eigenschaften, als das bisher bekannte. Wir unterlassen hier die Beschreibung der von uns dabei angewandten Reinigungsmethoden und theilen gleich diejenige mit, die uns zur Darstellung des reinen Products geführt hat.

Das Verfahren ist folgendes: Eine Anzahl von Kölbchen zu etwa 300 ccm Inhalt werden mit je 75 g Eisessig, der bei 10° mit Bromwasserstoff gesättigt ist, beschickt und in jedes Kölbchen allmählich und unter fortwährendem Umrühren je 5 g der nach dem früher von uns beschriebenen Verfahren dargestellten und bei 100 g getrockneten Häminkrystalle eingetragen. Das Hämin geht hierbei zum grössten Theil in Lösung über, worauf dann die Kölbchen 20 bis 30 Minuten lang auf dem Wasserbade erwärmt werden. Es entweicht Bromwasserstoff in Strömen, der eventuell in frischem Eisessig aufgefangen werden kann. Man erwärmt so lange unter fortwährendem Umrühren, bis kein Gas mehr entweicht und entweder gar kein oder nur ein geringer Rückstand von ungelöstem Hämin hinterbleibt. Die braunrothe Farbe der Lösung geht in ein prächtiges Roth des Hämatoporphyrins über. Es ist nöthig, das Hämin in kleinen Portionen in den Eisessig einzutragen. Schüttet man die 5 g auf einmal ein, so verharzt das Hämin und geht nur sehr schwer in Lösung über. Auch das Erwärmen darf nicht zu lange fortgesetzt werden, da sonst die schön rothe Lösung einen braunen Stich bekommt und die Ausbeute an reinem Product geringer wird. Der Kölbcheninhalt wird jetzt in viel Wasser gegossen: auf 40 bis 50 g des verarbeiteten Hämins fünf bis sechs Liter destillirten Wassers. Beim Vermischen der eisessigsauren Lösung mit Wasser tritt der angenehme Geruch des gebildeten Essigsäureamylesters hervor, es entsteht ein brauner, flockiger Niederschlag, und die Flüssigkeit färbt sich tief roth. Man lässt einige Stunden stehen, filtrirt vom Ungelösten ab und versetzt das Filtrat mit Natronlauge. Sobald aller Bromwasserstoff gesättigt ist, fällt aus der Lösung der in Essigsäure unlösliche Farbstoff fast vollständig aus. Man lässt absetzen und wäscht den Niederschlag durch Decantation oder auf dem Filter so lange aus, bis im Filtrat durch Silbernitrat kein Niederschlag entsteht. Das aus dem Hämin abgespaltene Eisen findet sich im Filtrate zum grössten Theil als Oxydul-, in geringeren Mengen auch als Oxydsalz vor.

Der ausgewaschene Niederschlag, nachdem er durch Liegen auf Fliesspapier den grössten Theil des Wassers verloren, wird noch feucht mit reiner verdünnter Natronlauge auf warmem Wasserbade $1/4$ Stunde digerirt. Es wird dadurch das noch anhängende Eisenoxydulsalz entfernt, während der Farbstoff in Lösung geht. Beim ruhigen Stehen des warmen Filtrates in der Kälte bilden sich allmählich an den Wänden und am Boden des Gefässes kugelige Aggregate des weiter unten zu beschreibenden Natronsalzes des Hämatoporphyrins aus. Es ist zweckmässig, sie zu sammeln, da man daraus durch Umkrystallisiren aus warmem Wasser leicht das Natronsalz rein erhalten kann. Die alkalische Lösung wird jetzt durch Essigsäure im Ueberschuss versetzt und der abgeschiedene Farbstoff von Neuem gut ausgewaschen, vom Filter abgehoben, mit wenig Wasser in einer Schale zu einem dicken Brei angerührt und unter Umrühren mit reiner Salzsäure vorsichtig versetzt. Der Farbstoff geht bis auf einen geringen harzigen Rest in Lösung über. Das tiefroth gefärbte Filtrat wird jetzt im Vacuum über SO_4H_2 verdunstet, woraus sich nach zwei- bis fünftägigem Stehen der grösste Theil des Hämatoporphyrins als salzsaures

Salz in braunrothen mikroskopischen Krystallnadeln absetzt. Das so erhaltene Salz ist jedoch nicht ganz rein. Bei mikroskopischer Durchmusterung der Krystalle findet man neben den rhombischen Nadeln des salzsauren Hämatoporphyrins auch dunkle, amorphe Körner, die das Präparat verunreinigen. Zur weiteren Reinigung werden die Krystalle auf ein Filter gebracht, mit wenig 10 proc. Salzsäure nachgewaschen und auf Fliesspapier liegen gelassen, bis davon keine Feuchtigkeit mehr aufgenommen wird. Jetzt werden die Krystalle mit möglichst wenig, auf 30 bis 35° vorgewärmtem Wasser unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure geschüttelt, bis vollständige oder fast vollständige Lösung erfolgt. Man filtrirt und versetzt das klare Filtrat mit einem nicht allzu starken Ueberschuss von Salzsäure (spec. Gew. 1.12). Das salzsaure Hämatoporphyrin ist in ganz schwach saurem Wasser leicht löslich, mit zunehmender Concentration der Säure nimmt die Löslichkeit jedoch ab. Lässt man jetzt die angesäuerte Lösung im Vacuum über SO_4H_2 stehen, so krystallisirt in kurzer Zeit das salzsaure Hämatoporphyrin aus. Das jetzt auskrystallisirte Salz ist vollkommen rein und homogen und geben Präparate verschiedener Darstellung bei den Elementaranalysen unter einander stimmende Zahlen. Die abfiltrirten und mit 10 proc. Salzsäure nachgewaschenen Krystalle haben wir zunächst zwischen Fliesspapier abgepresst, sodann im Exsiccator über concentrirter Schwefelsäure und Natronkalk bis zu constantem Gewicht getrocknet. Da die Substanz am Licht sich leicht bräunt, so ist es nothwendig, während des Trocknens sie im Dunkeln aufzubewahren.

Aus den Mutterlaugen der Krystalle kann durch Uebersättigen mit Natronlauge, Fällen mit Essigsäure, Auswaschen des Niederschlages und Auflösen in Salzsäure von Neuem das salzsaure Hämatoporphyrin krystallinisch erhalten werden.

Um aus dem salzsauren Salz das freie Hämatoporphyrin zu erhalten, werden die reinen trockenen Krystalle in Wasser, das durch einige Tropfen Salzsäure schwach sauer ist, in der Kälte gelöst und die Lösung genau mit Natronlauge neutralisirt. Um die Neutralisation der Salzsäure vollkommen zu erreichen, werden der Lösung einige Tropfen Essigsäure zugesetzt, oder noch besser die salzsaure Lösung mit essigsaurem Natron ausgefällt. Das in braunrothen amorphen Flocken abgeschiedene Hämatoporphyrin wird auf dem Filter vollständig ausgewaschen und im Vacuum über SO_4H_2 bis zu constantem Gewicht getrocknet. Wie aus der ganzen obigen Beschreibung ersichtlich, ist das Hämatoporphyrin ein sehr delicater und leicht veränderlicher Körper. Die Lösung des salzsauren Salzes darf nicht erwärmt werden, da leicht Verharzung eintritt. Ebenso verträgt das freie Hämatoporphyrin kein Trocknen im Luftbade bei 100° und darüber. Man erkennt dies leicht daran, dass das bloss im Vacuum getrocknete Präparat in verdünnter Salzsäure und Alkohol leicht und vollkommen löslich ist. Versucht man es im Luftbade bei 100° zu trocknen, so wird es je nach der Dauer allmählich in Salzsäure, hernach auch in Alkohol unlöslich und nimmt eine bräunliche Färbung an. Dabei verliert es an Gewicht und zwar so, dass das bei 105 bis 110° bis zu constantem Gewicht getrocknete Präparat bei 110 bis 115° u. s. w. von Neuem an Gewicht verliert. Aehnliches gilt auch von den weiter unten zu beschreibenden Metallverbindungen des Hämatoporphyrins.

Die Elementaranalysen des salzsauren, sowie des daraus dargestellten freien Hämato-

porphyrins ergaben uns die überraschende Thatsache, dass dasselbe nach der Formel: $C_{16}H_{18}N_2O_3$ zusammengesetzt, d. h. dem Gallenfarbstoff — dem Bilirubin — isomer ist.

0.2062 g des salzsauren Salzes, mit Kupferoxyd und vorgelegter metallischer Silber- und Kupferspirale verbrannt, ergaben 0.4522 g CO_2 und 0.1144 g H_2O oder 59.80 Proc. C und 6.16 Proc. H.

0.2966 g mit Salpetersäure und salpetersaurem Silber in zugeschmolzenem Rohre erhitzt, gaben 0.1292 g AgCl = 10.77 Proc. Cl.

0.2254 g mit Kupferoxyd im Schiffchen verbrannt, gaben 18 ccm N-Gas bei 19^0 und 705 mm Bst. = 8.5 Proc. N.

Die Analysen des aus diesem Präparate dargestellten freien Hämatoporphyrins ergaben folgende Zahlen:

0.2005 g mit Kupferoxyd verbrannt, gaben 0.4914 g CO_2 und 0.1142 g H_2O oder 66.84 Proc. C und 6.32 Proc. H.

0.2193 g gaben mit Kupferoxyd verbrannt 20 ccm N-Gas bei 17.4^0 und 706 mm Bst. = 9.77 Proc. N.

0.2179 g des gleichen Präparates gaben 0.5367 g CO_2 und 0.1289 g H_2O oder 67.16 Proc. C und 6.56 Proc. H.

0.2592 g des salzsauren Hämatoporphyrins, von einer anderen Darstellung herrührend, gaben 0.5682 g CO_2 und 0.1376 g H_2O oder 59.79 Proc. C und 5.89 Proc. H.

0.2425 g der Substanz gaben 0.1052 g AgCl = 10.73 Proc. Cl.

Der Rest des Präparates wurde in freies Hämatoporphyrin verwandelt und analysirt.

0.1973 g der Substanz gaben 0.4846 g CO_2 und 0.1103 g H_2O oder 66.98 Proc. C und 6.21 Proc. H.

0.2677 g des salzsauren Hämatoporphyrins, von einer dritten Darstellung herrührend, gaben 0.1177 g AgCl = 10.9 Proc. Cl.

0.2157 g gaben 0.4712 g CO_2 und 0.1223 g H_2O oder 59.57 Proc. C und 6.29 Proc. H.

0.243 g gaben 18.4 ccm N-Gas bei 14^0 und 720 mm Bst. = 8.41 Proc. N.

Ein anderer Theil des Präparates, in freies Hämatoporphyrin verwandelt, g[illegible] folgende Zahlen:

0.2445 g gaben 0.5996 g CO_2 und 0.1438 g H_2O = 66.85 Proc. C und 6.[illegible] Proc. H.

0.2383 g gaben 20.7 ccm N-Gas bei 16.6^0 und 720 mm Bst. = 9.51 Proc. [illegible]

Die aus den erhaltenen Zahlen berechnete Formel des salzsauren Salzes = $C_{16}H_{18}N_2O_3HCl$ verlangt in Procenten:

Theorie			Versuch		
			I.	II.	III.
C_{16} . . . . 59.53 Proc.		C	59.80	59.79	59.57 Proc.
H_{19} . . . . 5.89 „		H	6.16	5.89	6.29 „
N_2 . . . . 8.68 „		N	8.5	—	8.41 „
Cl . . . . 11.00 „		Cl	10.77	10.73	10.9 „

Die Hämatoporphyrinformel = $C_{16}H_{18}N_2O_3$ verlangt in Procenten:

	Theorie		Versuch I.		II.	III.
C . . .	67.13 Proc.	C . . .	66.84 und	67.16	66.98	66.85 Proc.
H . . .	6.29 „	H . . .	6.32	6.56	6.21	6.53 „
N . . .	9.79 „	N . . .	9.77			9.51 „

Das mittelst Bromwasserstoff erhaltene Hämatoporphyrin ist in fixen und kohlensauren Alkalien, verdünnten Mineralsäuren und Alkohol leicht löslich, nur wenig löslich in Aether, Amylalkohol und Chloroform. In Wasser und verdünnter Essigsäure ist es fast unlöslich. Die alkoholische, sowie die alkalische Lösung sind schön roth und zeigen im Spectrum die bekannten vier Absorptionsstreifen, wie sie schon von Hoppe-Seyler und neuerdings von le Nobel[1]) in ihren Arbeiten abgebildet sind. An der Luft nehmen die alkalischen Lösungen allmählich einen bräunlichen Stich an. Mit Säuren ausgefälltes und abfiltrirtes feuchtes Hämatoporphyrin färbt sich an der Luft grünlich. Die alkoholische Lösung mit Essigsäure angesäuert, zeigt im Spectrum ebenfalls die vier Absorptionsbänder. Besonders schön sind die Lösungen des Hämatoporphyrins in verdünnten Mineralsäuren, wo die lebhaft rothe Farbe einen bläulichen Stich hat. Solche Lösungen zeigen im Spectrum die zwei scharfen Absorptionsbänder zu beiden Seiten der Natriumlinie, wie sie von früheren Autoren als Spectrum des Hämatoporphyrins in saurer Lösung abgebildet wurden. Von Interesse, namentlich für solche Pseudochemiker, die sich bei ihren Arbeiten einzig mit dem Spectralapparate begnügen und daraufhin neue Körper entdecken, ist das spectroskopische Verhalten des salzsauren Hämatoporphyrins. So lange den Krystallen Feuchtigkeit und überschüssige Salzsäure anhaftet, sind sie in Wasser leicht löslich und zeigen im Spectrum die zwei Absorptionsbänder des Hämatoporphyrins in saurer Lösung. Ueber Schwefelsäure und Natronkalk bis zu constantem Gewicht getrocknet, sind sie in Wasser nicht mehr ganz löslich, wohl aber in Alkohol. Eine solche alkoholische Lösung zeigt im Spectrum fünf Absorptionsbänder, genau so, wie sie Herr le Nobel für sein Isohämatoporphyrin in alkoholischer Lösung abgebildet hat. Ein minimaler Zusatz von Mineralsäure genügt, um die fünf Bänder verschwinden zu lassen und statt deren zwei Streifen des Hämatoporphyrins in saurer Lösung hervorzurufen. Durch Eintragen von NaCl, $MgCl_2$, $SO_4(NH_4)_2$ und anderer Neutralsalze wird das Hämatoporphyrin aus seiner salzsauren Lösung ausgefällt.

Meistentheils ist der abgeschiedene Farbstoff amorph. Hat man aber die Lösung mit dem Neutralsalz nicht übersättigt oder von dem ausgefällten Theil abfiltrirt, so bilden sich bei ruhigem Stehen des Filtrats in der Kälte zu Büscheln vereinigte Krystalle des salzsauren Salzes.

So haben wir sie zum ersten Male gesehen und auf Taf. I, Fig. 1 abgebildet. Leider sind die Krystalle nicht haltbar. Allem Anschein nach enthalten sie Krystallwasser, das sie schon an der Luft verlieren. Nach dem Pulvern und Trocknen über Schwefelsäure ist das Salz amorph. Durch Wasser werden sie zersetzt, weshalb sie

[1]) Pflüger's Archiv. 40.

auch bei der Darstellung mit salzsäurehaltigem Wasser nachzuwaschen sind. In verdünnter Salzsäure suspendirt, halten sie sich unverändert. Wir bewahren ein solches Präparat seit nahezu einem Jahre.

Es ist dies jedoch nicht die einzige krystallinische Verbindung des Hämatoporphyrins. Wir haben oben erwähnt, dass beim Auflösen desselben in warmer Natronlauge und Erkalten des Filtrats sich kugelige Aggregate absetzen. Es ist dies das Natronsalz des Hämatoporphyrins. Dieses Salz wurde abfiltrirt, zwischen Fliesspapier abgepresst und zweimal aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt. Es ist nothwendig, das Salz möglichst kurze Zeit zu erwärmen und es empfiehlt sich deshalb, durch einen warmen Trichter zu filtriren. Wir erhielten so die Natriumverbindung völlig homogen, in sehr kleinen Drusen aus mikroskopischen, concentrisch gruppirten Prismen bestehend (s. Taf. I, Fig. 2). Die Krystalle sind doppelbrechend. Eine Natriumbestimmung in dem im Vacuum bis zu constantem Gewicht getrockneten Salz ergab uns folgende Zahlen: 0.2624 g gaben 0.0561 g SO_4Na_2 = 6.92 Proc. Na. Die Formel $C_{16}H_{17}NaN_2O_3 + H_2O$ verlangt 7.05 Proc. Na. Das Natronsalz ist in Wasser bedeutend leichter löslich, als die salzsaure Verbindung, weshalb bei Zusatz von Salzsäure zu seiner wässerigen Lösung sich sofort salzsaures Hämatoporphyrin abscheidet; in Alkohol ist dagegen die Natriumverbindung nur wenig löslich. Aus diesem Salz lassen sich durch Doppelzersetzung eine ganze Reihe Metallverbindungen des Hämatoporphyrins darstellen. Allem Anschein nach entstehen hierbei durch wässerige Lösung der Metallsalze mit Mineralsäuren Verbindungen, die auf ein Molekül des Hämatoporpyrins ein Atom eines einwerthigen Metalls enthalten. Durch Fällung mit essigsauren Salzen entstehen dagegen Verbindungen mit zwei Atomen Metall. Mit Ausnahme noch des Kalium- und des Ammoniumsalzes sind die Metallverbindungen des Hämatoporphyrins in Wasser unlösliche, amorphe, rothe bis braunrothe Niederschläge.

Das Zinksalz, durch Fällung des oben beschriebenen Natronsalzes mit einer Lösung von Zinkacetat erhalten, ist ein braunrother, in Wasser vollkommen unlöslicher Niederschlag. Auf dem Filter bis zum Verschwinden des Zinks im Filtrate ausgewaschen und über SO_4H_2 bis zum constanten Gewicht getrocknet, ergab das Salz uns folgende Zahlen: 0.2522 g gaben 0.0545 g ZnO = 17.35 Proc. Zn, entsprechend der Formel $C_{16}H_{16}ZnN_2O_3 + H_2O$, welche 17.71 Proc. Zn verlangt. Wir haben versucht, zur Entfernung des Krystallwassers das Salz bei 105 bis 110° zu trocknen. Es findet hierbei zwar Gewichtsverlust statt, das Salz wird jedoch bräunlich und ist in verdünnter Salzsäure nicht mehr vollständig löslich.

Durch Silbernitrat wird die Lösung des Hämatoporphyrinnatrons ebenfalls gefällt. Der entstandene, gut ausgewaschene Niederschlag wurde auch nur über SO_4H_2 getrocknet. 0.1882 g dieses Salzes hinterliessen nach dem Glühen 0.049[illegible] g Ag = 26.46 Proc. Ag. Es ist übrigens möglich, sogar wahrscheinlich, dass die Metallsalze des Hämatoporphyrins nicht Verbindungen mit Metallen, sondern mit Metalloxyden sind und dementsprechend die analysirten Salze nach den Formeln $(C_{16}H_{18}N_2O_3)_2Na_2O + H_2O$, $(C_{16}H_{18}N_2O_3)ZnO$ und $(C_{16}H_{18}N_2O_3)_2Ag_2O$ zusammengesetzt sind.

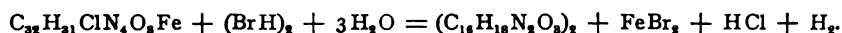
Auch die Baryum- und die Calciumsalze des Hämatoporphyrins sind in Wasser

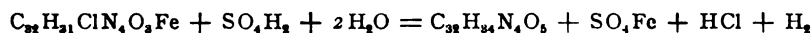
nahezu unlöslich. Sie werden durch Fällung der Natriumverbindung mit $BaCl_2$, $CaCl_2$, resp. den Acetaten dieser Erdmetalle erhalten.

Aus allem Mitgetheilten geht zur Genüge hervor, dass das mittelst Bromwasserstoff erhaltene Hämatoporphyrin bis auf das spectroskopische Verhalten in allen übrigen Eigenschaften und der Zusammensetzung von dem mittelst concentrirter SO_4H_2 dargestellten verschieden ist. Dass das mittelst Bromwasserstoff dargestellte Product eine reine chemische Verbindung von der Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ ist, geht mit Sicherheit aus den oben mitgetheilten Analysen hervor. Ob das mittelst concentrirter Schwefelsäure dargestellte Product rein oder ein Gemenge mehrerer Substanzen ist, lassen wir unentschieden. Es muss aber hervorgehoben werden, dass die von uns in unserer zweiten Mittheilung[1]) aus den analytischen Resultaten abgeleitete Formel in sehr naher Beziehung zu der Formel der mit Bromwasserstoff erhaltenen Substanz steht. Man hat in der That:

$$(C_{16}H_{18}N_2O_3)_2 = C_{32}H_{34}N_4O_5 + H_2O.$$

Das mittelst concentrirter Schwefelsäure erhaltene Hämatoporphyrin wäre also ein Anhydrid des neu erhaltenen und diese Annahme erscheint uns auch als die wahrscheinlichste. Die Häminkrystalle sind nach der Formel $C_{32}H_{31}ClN_4O_3Fe$ zusammengesetzt. Bei der Bildung des Hämatoporphyrins daraus müsste freier Wasserstoff auftreten, entsprechend der Gleichung:

$$C_{32}H_{31}ClN_4O_3Fe + (BrH)_2 + 3H_2O = (C_{16}H_{18}N_2O_3)_2 + FeBr_2 + HCl + H_2.$$

Für die Formel $C_{16}H_{17}N_2O_3$ wurde der Wasserstoff in den Analysen des salzsauren Salzes, wie des freien Hämatoporphyrins durchgängig zu niedrig gefunden; sie bleibt also ausgeschlossen. Freier Wasserstoff müsste übrigens auch bei der Bildung des Schwefelsäurehämatoporphyrins auftreten nach der Gleichung:

$$C_{32}H_{31}ClN_4O_3Fe + SO_4H_2 + 2H_2O = C_{32}H_{34}N_4O_5 + SO_4Fe + HCl + H_2$$

und doch haben wir beim Auflösen der Häminkrystalle in concentrirter SO_4H_2 an gasförmigen Producten nur Chlorwasserstoff nachweisen können. Ohne es direct nachgewiesen zu haben, sind wir der Ansicht, dass der Wasserstoff bei der Umwandlung des freien Hämins in Hämatoporphyrin deshalb nicht frei auftritt, weil er von einem anderen Theil des leicht reducirbaren Hämins absorbirt wird.

Es wurde oben mitgetheilt, dass beim Eingiessen der eisessigsauren Lösung in Wasser das bromwasserstoffsaure Hämatoporphyrin in Lösung geht und gleichzeitig ein flockiger, in verdünnten Mineralsäuren unlöslicher Niederschlag entsteht. Dieser Niederschlag besteht nur zum geringen Theil aus unzersetztem Hämatin und unlöslich gewordenem Hämatoporphyrin. Es findet sich hauptsächlich darin ein brauner, in Chloroform leicht löslicher Körper, der allem Anschein nach dieses Reductionsproduct ist. Es gelang uns aber nicht, diese Substanz von dem ihm beigemengten Hämatoporphyrin zu trennen. Wir versuchten, den Bromwasserstoff durch eine kaltgesättigte Lösung von Chlorwasserstoff in Eisessig zu ersetzen. Doch wird Hämin, damit auf dem Wasserbade erwärmt, nicht zersetzt, während bei Anwendung von Jodwasserstoff in Eisessig die Reduction schon in der Kälte viel weiter geht und als

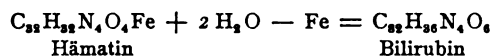
[1]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **20**, 330. — Nencki's Opera omnia **1**, 793.

Endproduct derselben, mit jodsubstituirten Substanzen vermengt, das später zu beschreibende Urobilin auftritt. Auch Hämatin wird durch Bromwasserstoff in Eisessig zu Hämatoporphyrin umgewandelt. Doch ist die Ausbeute wegen der Schwerlöslichkeit des ersteren viel geringer, und selbst bei Anwendung von Häminkrystallen ist wegen der nothwendigen Reinigungen und damit verbundenen Verlusten die Menge des rein erhaltenen Hämatoporphyrins keineswegs gross. Wir haben im Laufe dieser Untersuchung über ein halbes Kilo Hämin verarbeitet, das theilweise von uns, hauptsächlich aber von unserem Laboratoriumsabwart nach der in der ersten Mittheilung angegebenen Methode dargestellt worden ist. Bei dieser Gelegenheit wollen wir noch bemerken, dass trotz Hoppe-Seyler der Amylalkoholgehalt der Krystalle ein constanter ist.

So auffallend auch uns selbst diese Thatsache war, so hatte ihre objective Anerkennung zunächst den Nutzen, dass wir den später von Hoppe-Seyler bestätigten Essigsäuregehalt der aus Eisessig dargestellten Häminkrystalle vorausgesagt haben. Dieser Befund steht jetzt nicht vereinzelt da. Nach den kürzlich veröffentlichten Mittheilungen von Mylius[1]) ist die blaue Jodcholsäure nach der Formel $(C_{24}H_{40}O_5J)_4HJ$ und die blaue Jodstärke nach der Formel $(C_{24}H_{40}O_{20}J)_4JH$ zusammengesetzt. Auf vier Moleküle der gejodeten Verbindung kommt als ein fünfter nothwendiger Bestandtheil ein Molekül Jodwasserstoff, worin das Wasserstoffatom auch durch verschiedene Metalle ersetzt werden kann.

Die auffällige Erscheinung, dass bei Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure oder in Eisessig gelösten Bromwasserstoffs das Hämin unter Wasseraufnahme in Hämatoporphyrin übergehe, findet nach unserer Vermuthung darin ihre Aufklärung, dass in erster Instanz Schwefelsäureester, beziehungsweise Acetylverbindungen entstehen, welche durch Wasser, resp. Alkali unter Aufnahme von Wasser zersetzt werden.

Als Ergebniss unserer ersten Untersuchung über das Hämatin haben wir den Satz aufgestellt, dass, wenn Blutfarbstoff in Gallenfarbstoff übergehe, dies unter Abspaltung von Eisen und Aufnahme von zwei Molekülen Wasser geschehen müsse:

$$\underset{\text{Hämatin}}{C_{32}H_{32}N_4O_4Fe} + 2\,H_2O - Fe = \underset{\text{Bilirubin}}{C_{32}H_{36}N_4O_6}$$

Diese Gleichung ist durch die Darstellung des Hämatoporphyrins mittelst Bromwasserstoff realisirt. Gleichzeitig erscheint dadurch die ursprüngliche einfache Formel des Bilirubins von Städeler als die richtigere. Aus der Zusammensetzung des salzsauren Hämatoporphyrins, sowie der Metallverbindungen desselben geht mit Sicherheit hervor, dass ihm die Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ zukommt. Maly hat die Städeler'sche Formel des Bilirubins verdoppelt. Veranlassung dazu waren ihm die Zusammensetzung des Tribrombilirubins, des Biliverdins und des Urobilins.

Sicher ist es, dass aus der Bilirubinformel $C_{32}H_{36}N_4O_6$ die Bildung der genannten Producte sich viel einfacher erklärt; doch ist dies für die Verdoppelung der Formel kein zwingender Grund. Hämatoporphyrin verliert schon bei 100° allmählich das Wasser und geht aller Wahrscheinlichkeit nach unter Verdoppelung des Moleküls

[1]) Ber. **20**, 688.

und Abspaltung von Wasser in das gleiche Product über, das aus Hämatin durch concentrirte Schwefelsäure entsteht. Aehnliches könnte mit dem Bilirubin bei der Einwirkung oxydirender oder reducirender Mittel der Fall sein. Trotz der auffälligen Verschiedenheit zwischen Hämatoporphyrin und Bilirubin sehen sich diese beiden Körper, namentlich wenn man ihre gleiche Zusammensetzung kennt, in vielen Punkten sehr ähnlich. Trocken auf Platinblech erhitzt, entwickelt das Hämatoporphyrin reichlich Pyrroldämpfe und hinterlässt schwer verbrennbare Kohle, weshalb auch, besonders bei den Stickstoffbestimmungen, mit Kupferoxyd ein heftiges und anhaltendes Glühen nothwendig ist. Reines, nach der Vorschrift von Städeler dargestelltes Bilirubin verhält sich ähnlich. Auch hier tritt beim Erhitzen auf Platinblech zunächst der Pyrrolgeruch auf und die Dämpfe röthen einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan. Später riechen die Dämpfe unangenehm kratzend, dem verbrennenden Phymatorhusin ähnlich und es hinterbleibt schwer verbrennbare Kohle. Uebergiesst man etwas Hämatoporphyrin mit rauchender Salpetersäure und erwärmt gelinde, so geht die anfänglich prächtig rothe Farbe in schönes Grün, Blau, später Gelb über, welche Farbenveränderung lebhaft an die Gmelin'sche Gallenfarbstoffreaction erinnert. Das bei der Oxydation des Hämatoporphyrins mit Salpetersäure zuerst auftretende, mit schön grüner Farbe darin lösliche Product fällt durch Zusatz von Wasser in amorphen, gelblich grünen Flocken aus. Von Alkalien wird es mit gelber Farbe gelöst. Wir haben es nicht näher untersucht. Vor Allem ist es aber das Verhalten gegen nascirenden Wasserstoff, worin sich die Verwandtschaft zwischen dem Bilirubin und dem Hämatoporphyrin documentirt. Maly fand, dass Bilirubin durch Natriumamalgam zu Urobilin reducirt wird. Ein dem Urobilin ganz ähnlicher Körper entsteht durch nascirenden Wasserstoff in saurer Lösung aus dem Hämatoporphyrin. Am raschesten erfolgt die Reduction durch Zinn und Salzsäure in alkoholischer Lösung. 93 proc. Alkohol wird mit Salzsäuregas gesättigt, darin das Hämatoporphyrin aufgelöst und mit Zinnfolie am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erwärmt.

Bei Anwendung von 10 bis 20 g Hämatoporphyrin ist die Einwirkung nach etwa einer halben Stunde vollendet. Man erkennt dies daran, dass die Farbe der Lösung feuriggelb wird und eine herausgenommene und mit Alkohol verdünnte Probe im Spectroskope nur den einen Absorptionsstreifen zwischen *b* und *F* zeigt. Aus der vom überschüssigen Zinn filtrirten Lösung haben wir den grössten Theil des Alkohols durch gelindes Erwärmen auf dem Wasserbade verdunstet und den entstandenen Farbstoff durch Zusatz von viel Wasser ausgefällt, welcher sich hierbei theilweise flockig, theilweise als ein Harz mit grünem, metallischem Reflex ausscheidet. Dieses Reductionsproduct ist in Alkohol und Aether leicht löslich, unlöslich dagegen in Wasser und wässerigen Alkalien. Es enthält eine beträchtliche Menge Zinn, welches Metall der alkoholischen Lösung des Farbstoffs weder durch Schwefelwasserstoff noch durch Alkalien sich entziehen lässt. Die alkoholischen Lösungen des Farbstoffs sind braunviolett. Durch Säurezusatz nimmt die Farbe eine röthliche Nuance an. Die sauren Lösungen zeigen im Spectrum den bekannten Urobilinstreifen zwischen Grün und Blau, dessen Lage, wie uns vergleichende Versuche zeigten, genau dem Absorptionsbande des Urobilins aus Bilirubin entspricht. Auch die grüne

Fluorescenz mit ammoniakalischer Chlorzinklösung ist ebenso schön und intensiv wie die einer Urobilinlösung aus Bilirubin von gleicher Concentration. Ebenso ist die Lage des Absorptionsbandes der beiden Zinksalze in ammoniakalischer Lösung dieselbe. Trotzdem sind die beiden Urobiline nicht identisch, indem, wie schon le Nobel[1]) bemerkt, das Urobilin aus Hämatoporphyrin sich an der Luft rasch oxydirt. Wir haben ammoniakalische Lösungen mit Chlorzink beider Urobiline von gleicher Concentration und gleicher Fluorescenz angefertigt. Schon nach drei Tagen war die Fluorescenz und der Streifen im Spectrum des Hämatoporphyrinurobilins verschwunden. Die Lösung wurde blassgelb, fast farblos. Das Bilirubin-Urobilin zeigte nach sieben Tagen kaum noch Fluorescenz; dagegen war der Streifen im Spectrum noch sehr deutlich. Nach fünfzehn Tagen war auch hier die Lösung ganz blass und zeigte keinen Absorptionsstreifen mehr. Um das Reductionsproduct des Hämatoporphyrins rein zu erhalten, haben wir es in möglichst wenig alkoholischem Ammoniak gelöst, die Lösung bis zur beginnenden Abscheidung des Farbstoffs mit Wasser versetzt und hierauf mit viel Aether geschüttelt. Nach mehrtägigem ruhigen Stehen wurde die ätherische Schicht abgehoben und der Aether abdestillirt. Der jetzt aus Aether erhaltene Farbstoff löste sich in alkoholischem Ammoniak nicht mehr mit braunrother, sondern mit rein gelber Farbe. Mit Chlorzink gab die ammoniakalische Lösung die schön grüne Fluorescenz und den charakteristischen Absorptionsstreifen; als aber die ammoniakalische Lösung mit Salzsäure angesäuert und mit Aether geschüttelt wurde, so färbte sich die ätherische Schicht grasgrün und zeigte im Spectrum, ausser dem Streifen zwischen *b* und *F*, noch zwei dunkle Absorptionsbänder im äussersten Roth. Es ist also klar, dass entweder aus dem Hämatoporphyrin mehrere ähnliche Reductionsproducte entstehen, oder dass das zuerst entstandene Product bei den Reinigungsversuchen weitere Veränderungen erleidet. So viel ist sicher — ein mit dem Gallenfarbstoffurobilin identisches Product entsteht hierbei nicht.

Wir haben versucht, den urobilinähnlichen Körper direct aus Hämin darzustellen, und zwar durch Reduction mit metallischem Eisen und Salzsäure. 20 g trockene Häminkrystalle wurden mit 400 g mit Salzsäuregas gesättigten 93 proc. Alkohols übergossen und mit kleingeschnittenem Clavierdraht am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erwärmt. Das Hämin geht allmählich in Lösung und wird zunächst beachtenswerther Weise in das in verdünnter ClH lösliche Hämatoporphyrin verwandelt, so dass auch auf die Weise das gleiche Product wie mittelst Bromwasserstoff in Eisessig erhalten werden kann. Wir erwärmten so lange, bis die Farbe der Lösung, ähnlich wie bei der Reduction des Hämatoporphyrins mit Zinn und Salzsäure, feuriggelb wurde.

Es trat dies in unserem Fall erst nach sechsstündigem Erwärmen ein. Die von Eisen filtrirte Lösung wurde in viel Wasser gegossen, der flockig abgeschiedene Farbstoff abfiltrirt, mit wenig Wasser nachgewaschen und auf Fliesspapier getrocknet. Jetzt wurde das Product zur Entfernung des Eisens mit alkoholischem Schwefelammonium behandelt, filtrirt, das Filtrat etwa auf 400 ccm verdunstet und in viel

[1]) Pflüger's Archiv **40**, 516.

Wasser gegossen. In die wässrige Lösung ging hauptsächlich der urobilinähnliche Körper über, während der flockig abgeschiedene Farbstoff mit ammoniakalischer Chlorzinklösung nur schwache Fluoreszenz zeigte. In seinen Eigenschaften war das in Wasser unlösliche Product ganz ähnlich dem aus Hämatoporphyrin mittelst Zinn und Salzsäure erhaltenen Körper: leicht löslich in Alkohol und Aether mit braunvioletter Farbe, unlöslich dagegen in Wasser und wässerigen Alkalien. Dieses Product war nicht homogen und es war uns nicht möglich, dasselbe von dem in Wasser löslichen Farbstoff zu trennen.

Zur Isolirung des wasserlöslichen Farbstoffs haben wir das wässerige Filtrat auf die Hälfte verdunstet und mit Aether ausgeschüttelt. Nach Abdestilliren des ätherischen Auszuges hinterblieb in geringer Menge ein in Wasser und wässerigen Alkalien nur wenig mit rein gelber Farbe löslicher Farbstoff. In verdünnten Säuren war er ebenfalls etwas löslich, welche Lösungen im Spectrum sehr schön den Urobilinstreifen zeigten. Ebenso zeigte die ammoniakalische Lösung mit Chlorzink die grüne Fluorescenz. Schon nach wenigen Tagen beim Stehen an der Luft verändert sich der Farbstoff. Seine ammoniakalische Lösung wird bräunlich und giebt mit Chlorzink nicht mehr die schöne Fluorescenz. An Reindarstellung und Analysen war bei der geringen Ausbeute und leichten Veränderlichkeit des Farbstoffs nicht zu denken. Erwähnen möchten wir hier noch, dass mit Zinn und alkolischer Salzsäure behandeltes Hämatoporphyrin nach Uebersättigen mit Alkali einen charakteristischen, an Skatol erinnernden Geruch entwickelt. Versuche zur Isolirung des Skatols oder eines ähnlichen Körpers blieben jedoch erfolglos.

Es konnte nicht fehlen, dass wir im Laufe dieser Untersuchung die früheren Arbeiten über den Gallenfarbstoff einer erneuerten Durchsicht unterworfen haben.

Städeler[1]), welcher für das Bilirubin die Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ aufstellte, fand in seinen bei 120 bis 130° getrockneten Präparaten 67.15 Proc. C, 6.27 Proc. H, 9.59 Proc. N, resp. 67.11 Proc. C und 6.12 Proc. H. Das bei 130° getrocknete Kalksalz enthielt 6.40 Proc. Ca. Die Formel $(C_{16}H_{17}N_2O_3)_2Ca$ verlangt 6.52 Proc. Ca. Die gleichen Zahlen erhielt Maly[2]). Er fand in seinen Bilirubinpräparaten 67.52 Proc. C, 6.29 Proc. H und 66.95 Proc. C und 6.29 Proc. H. Die Analysen der beiden Autoren stimmen also gut unter einander, und die Zusammensetung des Kalksalzes spricht für die Beibehaltung der einfachen Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$. Thudichum hat bekanntlich für das Bilirubin die Formel $C_9H_9NO_2$ aufgestellt. Diese Formel verlangt 66.26 Proc. C, 5.52 Proc. H und 8.59 Proc. N. Er sucht sie noch durch eine Reihe von ihm dargestellter Salze und Bromsubstitutionsproducte zu beweisen. Für uns sind die Angaben Thudichum's einer ernsten Beachtung nicht werth, und jeder sachverständige Chemiker, der sich die Mühe gegeben hat, seine Publicationen durchzulesen, wird gewiss unserer Ansicht sein. Man vergleiche zum Beispiel, wie er mit der Reindarstellung seines Dibrombilirubins[3]) fertig wird.

Hämatoporphyrin, dem Thierkörper einverleibt, wird zum kleinen Theil mit dem Harn unverändert ausgeschieden, zum grössten im Organismus zurückgehalten

[1]) Vierteljahrsschrift d. naturf. Gesellschaft in Zürich. VIII. Jahrgang, 1863. S. 277 ff.
[2]) Wiener Akad.-Berichte **70** (1874).
[3]) Ann. Chem. Pharm. **181**, 247 ff.

und vielleicht zur Hämoglobinbildung verwendet. Ein Kaninchen erhielt 0.1 g des reinen Natronsalzes in wässeriger Lösung subcutan. Der darauf nach fünf und zehn Stunden sowie am folgenden Tage mit Katheter entnommene Harn enthielt weder Gallenfarbstoff noch Urobilin, noch unverändertes Hämatoporphyrin. Nach drei Wochen wird der Versuch am gleichen Thiere wiederholt. Das Kaninchen erhält jetzt 0.4 g des Natronsalzes in 4 proc. Lösung an zwei Stellen subcutan injicirt. Der fünf Stunden später entnommene Harn enthält keinen Gallenfarbstoff, kein Urobilin, wohl aber geringe Mengen von Hämatoporphyrin, das durch Ansäuern des Harns und Ausschütteln mit Amylalkohol isolirt wird. Der vier Stunden später entnommene Harn enthält schon weniger Hämatoporphyrin. Der Harn am folgenden Tage — in der Nacht hat das Thier keinen Harn gelassen — enthält nur Spuren von Hämatoporphyrin. In dem fünf Stunden später entnommenen Harn war kein Hämatoporphyrin mehr nachweisbar. Achtzehn Tage später wird das Thier getödtet. Die Section zeigt, dass die erste Injectionsstelle verhärtet ist. Die Schrunde nach innen zu ist roth gefärbt. In der ganzen Umgebung im Unterhautzellgewebe, sowie an den entsprechenden Stellen an den Muskeln keine Verfärbung. An der rechten Seite, der zweiten Injectionsstelle, findet sich ein haselnussgrosser, verkäster Abscess, der etwas Farbstoff enthält. In der ganzen Umgebung war keine abnorme Verfärbung vorhanden. Der an beiden Injectionsstellen noch vorgefundene Farbstoff erwies sich als Hämatoporphyrin. Als wir einem Kaninchen 1.5 g des Natronsalzes subcutan injicirten, enthielt der Harn bedeutend grössere Mengen des Hämatoporphyrins; daneben auch Urobilin und Eiweiss. Das Thier ging am dritten Tage zu Grunde. Bei einem Hunde von 13 kg Körpergewicht, der per os 0.7 g Hämatoporphyrin erhielt, haben wir im Harn weder Hämatoporphyrin noch sonst etwas Abnormes gefunden. Der darauf gelassene Koth enthielt etwas unverändertes Hämatoporphyrin, das durch Ausziehen mit Amylalkohol nachgewiesen wurde.

Mit der Feststellung der Formel des Hämatins und des Hämatoporphyrins ist die Frage nach der Zusammensetzung des Blutfarbstoffs erledigt. Die zukünftige Untersuchung auf diesem Gebiete wird sich voraussichtlich einerseits dem vollständigen Abbau des Hämatoporphyrinmoleküls, andererseits der künstlichen Darstellung des Blutfarbstoffs zuwenden. Das Hämatoporphyrin, für welches Mulder und v. Goudoever die Formel $C_{44}H_{44}N_6O_6$ und Hoppe-Seyler die Formel $C_{68}H_{74}N_8O_{12}$ aufstellten, ist, wie man sieht, ein verhältnissmässig einfach zusammengesetzter Körper. Es ist ein Abkömmling des Pyrrols, und seiner künstlichen Darstellung dürften kaum grössere Schwierigkeiten entgegenstehen, als wie der des Hämatoxylins oder der bereits realisirten des Indigo. Von Interesse ist die folgende, gelegentlich der Chlorbestimmung im salzsauren Salz gemachte Beobachtung. Beim Erwärmen des Hämatoporphyrins mit NO_3H und NO_3Ag auf dem Wasserbade im zugeschmolzenen Rohr wird das Hämatoporphyrin unter lebhafter Gasentwickelung gelöst. Lässt man nun nach etwa einer halben Stunde, wenn die Lösung ganz farblos geworden, erkalten, so krystallisirt in ziemlicher Menge ein farbloses Silbersalz einer Säure aus, deren Untersuchung voraussichtlich von Wichtigkeit für die Erkenntniss der chemischen Constitution des Hämatoporphyrinmoleküls sein wird. Allem Anschein nach werden im Organismus und speciell in der Leberzelle gleich-

zeitig Hämatoporphyrin und Bilirubin gebildet und wir werden beim Uebergang von Urobilin in den Harn zu unterscheiden haben, ob es vom Blut- oder Gallenfarbstoff abstammt. Aber nur das leicht veränderliche Hämatoporphyrin ist zum Aufbau des Hämoglobinmoleküls geeignet. Das nicht verwerthbare Bilirubin wird mit dem Darminhalt entleert.

Die vielfach discutirte Frage, ob aus dem Blutfarbstoff im Organismus Gallenfarbstoff gebildet werde, kann auf Grund der erhaltenen Resultate mit grosser Wahrscheinlichkeit bejahend beantwortet werden. Durch Spaltpilze oder auch Alkalien entsteht bekanntlich aus den Kohlehydraten Gährungsmilchsäure. In thierischen Organismen wird dagegen daraus die ihr isomere Fleischmilchsäure gebildet. Ein ähnliches Verhältniss scheint bezüglich der Bildung des Hämatoporphyrins und des Bilirubins aus dem Blutfarbstoff zu bestehen. Von Interesse ist daher die Thatsache, dass unter Umständen auch im Thierkörper Hämatoporphyrin gebildet wird. So ist nach Mac Munn[1]) der Farbstoff im Integument einiger wirbelloser Thiere Hämatoporphyrin, und Tappeiner[2]) fand es in pathologischen Knochen zweier Schweine als körniges, braunrothes Pigment in allen Schichten der Knochensubstanz eingelagert.

Erklärung der Tafel I.

Fig. 1. Krystalle des salzsauren Hämatoporphyrins.
Fig. 2. Hämatoporphyrinnatron. 300 fache Vergrösserung.

Erklärung

von

M. Nencki.

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 24, 448.

Im letzten Heft der Zeitschrift für physiologische Chemie[3]) sucht Herr Mörner den vermeintlichen Eisengehalt des Phymatorhusins durch theoretische Erwägungen zu beweisen. Nach seiner Ansicht enthält das Phymatorhusinmolekül Eisen, nur sei dasselbe durch Erwärmen mit verdünnter Salzsäure leicht abspaltbar. Ich sage nein. Dieser Farbstoff ist eisenfrei. Entfernen Sie die übrigen Aschenbestandtheile aus Ihren Phymatorhusinpräparaten, so wird damit auch der Eisengehalt verschwinden. Zu gleichen Resultaten wie wir sind übrigens bezüglich des Hippomelanins Herr Miura[4]) und bezüglich des Phymatorhusins Herr Landwehr[5]) bei ihren Analysen dieser Farbstoffe gelangt.

---

[1]) Maly's Jahresb. 16, 348.
[2]) Ebenda, S. 320.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 12, 229 ff.
[4]) Virchow's Archiv 107, 250 (1887).
[5]) Verhandlungen der phys.-med. Gesellschaft in Würzburg 1887.

Ich benutze hingegen die Gelegenheit, um Herrn Mörner meinen höflichen Dank für die Auffindung der Rechnungsfehler auszusprechen. Der grösste davon ist dadurch entstanden, dass für 0,251 g der Substanz das Gewicht des gefundenen $SO_4Ba = 0.2334$ g angegeben und daraus der Schwefelgehalt zu 10.13 Proc. statt zu 12.77 Proc. berechnet ist (Nencki's Opera omnia 1, 810). Der Sachverhalt ist, wie ich aus dem Analysenbuche vom Jahre 1885 ersehe, der, dass neben der Zahl 0.2334 die Zahl 10.13 Proc. S steht. Auf der anderen Seite desselben Blattes findet sich aber nach Abzug des Tiegelgewichtes die Zahl 0.185 g SO_4Ba und daneben die Bemerkung „nach Behandlung mit HCl". Der gefundene Schwefelgehalt war also in Wirklichkeit 10.13 Proc., nur wurde statt des Gewichtes des reinen SO_4Ba das grössere, durch den mitgefällten salpetersauren Baryt bedingte Gewicht angegeben.

Sodann wurde S. 351 [1]) der procentische Gehalt von C und H statt für aschefreie für aschehaltige Substanz berechnet. Es ist demnach zu lesen: C 54.21 Proc., H 4.27 Proc. statt C 53.58, H 4.22 Proc. S. 353 (Nencki's Opera omnia 1, 811) ist die procentische Zusammensetzung des mit Essigsäure gereinigten Phymatorhusins zu corrigiren, und zwar statt 54.88 Proc. C 5.38 Proc. H und 13.37 Proc. N ist zu lesen: 52.83 Proc. C, 5.18 Proc. H und 11.49 Proc. N.

Bern, im August 1888.

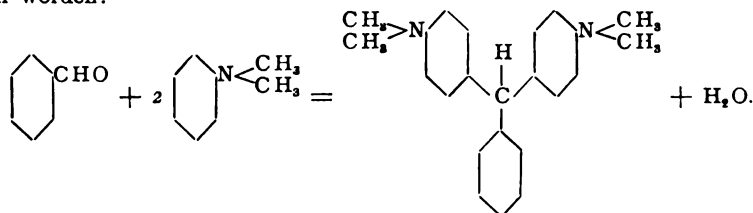
Leichte Darstellung der Leukobase des Malachitgrüns

von

M. Nencki.

Monatsh. f. Chem. 9, 1148.

Das Tetramethyldiamidotriphenylmethan ist bekanntlich zuerst von O. Fischer [2]) aus Bittermandelöl und Dimethylanilin durch Condensation mittelst Chlorzink erhalten worden:

$$C_6H_5CHO + 2\,C_6H_5N{<}^{CH_3}_{CH_3} = \begin{matrix} (CH_3)_2N{-}C_6H_4 \\ \quad\diagdown \\ \qquad H{-}C{-}C_6H_5 \\ \quad\diagup \\ (CH_3)_2N{-}C_6H_4 \end{matrix} + H_2O.$$

Obgleich die Ausbeute an Leukobase bei Anwendung von Chlorzink etwa 90 Proc. beträgt, so hat die Operation einige Uebelstände, indem häufig die Schmelze zu einer zähen Masse wird und es nöthig ist, Wasser zuzugeben, bis wieder ein homogener, nicht zu dicker Brei entsteht. Sodann ist es nöthig, aus dem

---

[1]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. 20. — Nencki's Opera omnia 1, 810.

[2]) Ann. Chem. Pharm. 206, 122 (1880).

Reactionsproduct das unzersetzte Bittermandelöl und Dimethylanilin mit Wasserdampf abzutreiben. Die fabrikmässige Darstellung der Leukobase geschieht gegenwärtig nicht durch Chlorzink, sondern durch die viel billigere Salzsäure. In Folgendem will ich ein Darstellungsverfahren dieser Base beschreiben, das zwar, was den Kostenpunkt betrifft, nicht mit dem Salzsäureverfahren concurriren kann, das aber wegen der Einfachheit der Operation zur Bereitung dieses wichtigen Körpers in Laboratorien besonders geeignet sein dürfte.

40 g Benzaldehyd, 100 g Dimethylanilin und 40 g 93 proc. Alkohol werden in einem geräumigen Kolben von etwa 2 Liter Inhalt auf dem Wasserbade erwärmt. Der Kolben ist durch einen doppelt durchbohrten Kork verschlossen, in dessen einer Bohrung sich ein aufrecht stehender Liebig'scher Kühler befindet, in der anderen ein kleiner Scheidetrichter, aus welchem man vorher abgewogene 65 g Phosphoroxychlorid in kleinen Portionen zu der erwärmten Flüssigkeit zufliessen lässt. Die ziemlich stürmische Einwirkung wird durch Schütteln des Kolbens gemässigt. Ist alles $POCl_3$ zugesetzt, so erwärmt man zur Vollendung der Reaction die Schmelze etwa eine halbe Stunde auf dem Wasserbade, bis sie keine Blasen mehr wirft. Hierauf wird die Masse auf dem Wasserbade in warmem Wasser gelöst, filtrirt und das Filtrat nach dem Erkalten mit Natronlauge im Ueberschusse versetzt. Nach einigen Stunden erstarrt das abgeschiedene Oel krystallinisch. Der Krystallkuchen wird zerkleinert, mit kaltem Wasser ausgewaschen und aus Alkohol umkrystallisirt. Die Ausbeute ist fast theoretisch. Das so erhaltene Präparat war schneeweiss und ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen: 0.3169 g Substanz gaben 0.9716 g CO_2 und 0.2279 g H_2O oder 83.62 Proc. C und 7.98 Proc. H.

0.2783 g Substanz gaben 21.5 ccm N-Gas bei 18° und 708 mm Bst., entsprechend 8.32 Proc. N.

Die Formel des Tetramethyldiamidotriphenylmethans $C_{23}H_{26}N_2$ verlangt: 83.64 Proc. C, 7.88 Proc. H und 8.48 Proc. N.

Ueber das Verhalten der o-Oxychinolincarbonsäure und deren Derivate im Organismus

von

S. Królikowski und **M. Nencki.**

Monatsh. f. Chem. 9, 208. — Diese Arbeit ist in etwas veränderter Form als Inaug.-Dissert. von Herrn Królikowski in Bern erschienen.

Die grossen Fortschritte in der Chemie der Pyridin- und Chinolingruppe des letzten Decenniums sind für die Medicin von besonderer Wichtigkeit. Es ist dadurch nicht allein ein tieferer Einblick in den chemischen Bau der wichtigsten Pflanzenalkaloide, ja selbst die künstliche Darstellung, wie z. B. des Coniins, ermöglicht worden, sondern einige Chinolinderivate, wie das Tetrahydroparachinanisol (Thallin)

und das Dimethyloxychinizin (Antipyrin) machen als werthvolle antifebrile Mittel dem Chinin starke Concurrenz, und es ist begründete Aussicht vorhanden, dass die Zahl neuer Arzneimittel aus der Pyridin-, resp. Chinolingruppe in der nächsten Zeit noch bedeutend anwachsen wird.

Es ist Sache der medicinischen Chemie, an der Hand der zahlreichen einfacher zusammengesetzten Pyridin- und Chinolinabkömmlinge nunmehr zu untersuchen, welche Veränderungen diese Verbindungen im thierischen Organismus erleiden. Es ist sicher, dass diese Untersuchungen, gleich wie die früheren Arbeiten über das Verhalten der Benzolabkömmlinge im Organismus, zu interessanten und wichtigen Ergebnissen führen werden.

Bekanntlich ist das Pyridin ein Benzol, in welchem eine CH-Gruppe durch Stickstoff ersetzt ist und in gleichem Verhältniss steht das Chinolin zu Naphtalin. Schon der erste mit Pyridin angestellte Versuch ergab ein höchst interessantes Resultat. Benzol wird im Organismus zu Phenol, in geringer Menge zu Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt. Aehnlich verhält sich im Thierkörper nach den kürzlich in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen [1]) das Naphtalin, das in geringen Mengen zu α-Naphtol und allem Anscheine nach zu Dioxynaphtalin oxydirt und als Naphtolätherschwefelsäure und α-Naphtolglycuronsäure ausgeschieden wird. W. His [2]) fand in Schmiedeberg's Laboratorium, dass das dem Thierkörper einverleibte Pyridin sich mit Methyl paart und als Methylpyridylammoniumhydroxyd, $C_5H_5NCH_3OH$, ausgeschieden wird. Nach Fütterung mit Piperidin und Picolin konnte His analog constituirte Basen aus dem Harne nicht isoliren. Ebenso wenig wurde ein Oxypyridin analog der Bildung von Phenol aus Benzol im Harn aufgefunden. Ueber das Verhalten des Chinolins im Organismus liegt nur eine später nicht vervollständigte Mittheilung von Brieger [3]) vor, wonach das Chinolin, als weinsaures Salz an Menschen verabreicht, nicht als solches ausgeschieden wird; es findet sich dagegen im Urin in reichlicher Menge eine andere Substanz vor, die mit Brom einen flockigen Niederschlag giebt, den in analysirbarem Zustande zu erhalten Brieger nicht vermochte. Kocht man derartigen Harn mit Salzsäure, so geht bei der Extraction mit Aether ein schön rother Farbstoff über, der sich durch Benzol und Eisessig von den anderen Harnfarbstoffen leicht trennen lässt, jedoch keine Neigung zur Krystallisation zeigt.

Bekanntlich werden vom Thierkörper die aromatischen Carbonsäuren entweder unverändert oder in Verbindung mit Glycocoll ausgeschieden. Es war daher von Interesse, das Verhalten der Pyridin-, resp. Chinolincarbonsäuren im Organismus zu untersuchen. Die chemische Fabrik von Dr. F. v. Heyden Nachfolger in Radebeul bei Dresden hatte die grosse Freundlichkeit, uns eine grössere Quantität der kürzlich von R. Schmidt und F. Engelmann [4]) beschriebenen Oxychinolincarbonsäure, sowie der daraus dargestellten Tetrahydro- und Methyltrihydrooxy-

---

[1]) Vergl. Leśnik, Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **24**, 167. — Dieser Band S. 65.

[2]) Beiträge zur Physiologie, als Festschrift C. Ludwig zu seinem 70. Geburtstage gewidmet. Leipzig 1886.

[3]) Zeitschrift für klin. Medicin **4**, Heft I u. II, Jahrgang 1882.

[4]) Ber. **20**, 1217 u. 2690.

chinolincarbonsäuren zur Verfügung zu stellen. Da man erwarten konnte, dass diese Säuren auch in therapeutischer Hinsicht von Interesse sein werden, so hat Herr Professor Demme in Bern die genannten Substanzen in pharmakologischer Hinsicht untersucht, und sind die Resultate dieser Untersuchung in den therapeutischen Monatsheften, Jahrgang 1888, Heft II, veröffentlicht. Die Veränderung dieser Verbindungen im Organismus, resp. ihre Ausscheidungsform haben wir untersucht, und es sind die erhaltenen Resultate Gegenstand der vorliegenden Mittheilung.

Orthooxychinolincarbonsäure.

Diese Säure entsteht nach den Versuchen von R. Schmidt und F. Engelmann fast quantitativ, wenn das o-Oxychinolinnatrium mit überschüssiger CO_2 in einem Autoclaven 7 bis 8 Stunden auf 140 bis 150° erhitzt wird. Die o-Oxychinolincarbonsäure, $C_9H_5N(OH)CO_2H$, ist in kaltem Wasser, Alkohol und Benzol nur wenig löslich, leichter in kochendem Alkohol, woraus sie beim Erkalten in kleinen mikroskopischen gelben Prismen krystallisirt. Die Lösungen besitzen tiefgelbe Farbe. Die wässerige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid violettroth bis tiefbraun. Die Säure enthält ein Molekül Krystallwasser, das sie bei 100° vollständig verliert. Im Capillarrohr erhitzt, beginnt sie bei 237° C. zu schmelzen, bei 144 bis 150° findet CO_2-Entwickelung und Destillation von o-Oxychinolin statt. Durch Kochen mit Zinn und Salzsäure nimmt die Säure vier Wasserstoffatome auf und geht in die Tetrahydroorthooxychinolincarbonsäure, $C_9H_5N(OH).(CO_2H)H_4$, über. Aus dieser hydrirten Säure haben R. Schmidt und F. Engelmann durch Erhitzen mit der entsprechenden Menge Jodmethyl in methylalkoholischer Lösung in geschlossenem Rohr einige Stunden auf 120° die Methyltrihydrooxychinolincarbonsäure, $C_9H_5N(CH_3)(OH)(CO_2H)H_3$, dargestellt. Die o-Oxychinolincarbonsäure von R. Schmidt und F. Engelmann ist der α-Oxycinchoninsäure von H. Weidel und Cobenzl[1]), ferner der Orthooxychinolincarbonsäure, die Lippmann und Fleissner[2]) durch Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf o-Oxychinolinkalium gewonnen haben, sowie auch der Kynurensäure isomer.

Nachdem durch Vorversuche an Fröschen und Kaninchen constatirt wurde, dass die o-Oxychinolincarbonsäure auch in grösseren Dosen nicht giftig ist — es erhielt z. B. ein Kaninchen 1.0 g Natronsalz in wässeriger Lösung subcutan ohne den geringsten Schaden — haben wir an einen zum regelmässigen Harnlassen dressirten Hund von 12 kg Körpergewicht täglich 2 bis 4 g der Säure verfüttert, welche Mengen ohne jede Störung von dem Thiere vertragen wurden. Der darauf gelassene Harn war stark gelb gefärbt, von saurer Reaction, und färbte sich mit Eisenchlorid ähnlich wie die verfütterte Säure tief braunroth. Schon beim Erkalten des auf dem Wasserbade eingedickten Harnes schied sich ein Theil der verabreichten Säure unverändert aus. Noch mehr davon wurde erhalten, als der abfiltrirte Harn mit etwas Essigsäure angesäuert und mit kaltem Alkohol übergossen wurde. Die erhaltene Säure, deren gelbe Lösungen mit Eisenchlorid braunrothe Färbung gaben,

[1]) Monatsh. f. Chem. 1, 855.
[2]) Ebenda 8, 311.

wurde aus heissem Wasser wiederholt umkrystallisirt, zunächst auf Fliesspapier, dann im Luftbade bei 100° bis zu constantem Gewichte getrocknet.

0.4043 g der lufttrockenen Substanz verloren bei 100° 0.036 g an Gewicht oder 8.9 Proc. Die Formel $C_9H_5N(OH).(CO_2H) + H_2O$ verlangt 8.82 Proc. Wasser.

Der Schmelzpunkt der verfütterten und der aus dem Harne erhaltenen Säure war derselbe, somit war zweifellos der grösste Theil der verfütterten Oxychinolincarbonsäure unverändert ausgeschieden. In den Aetherextracten des Harnes konnten wir kein neues Product auffinden. Ebenso ergab die Bestimmung der Schwefelsäuren, dass die Orthooxychinolincarbonsäure nicht als Aetherschwefelsäure ausgeschieden wird. So betrug die Menge der Schwefelsäure der Salze in 100 ccm Harn (bei 410 ccm 24 stündiger Harnmenge) nach Verfütterung von 3.0 g der Säure 0.1963, die Menge der Aetherschwefelsäuren 0.0289; das Verhältniss der beiden zu einander als annähernd wie 7:1. In einem zweiten Versuche nach Verfütterung von 2.0 g der Säure erhielten wir folgende Zahlen: In 100 ccm Harn (bei 270 ccm 24 stündiger Harnmenge) 0.1684 g Sulfatschwefelsäure und 0.0283 g Aetherschwefelsäure, also im Verhältniss annähernd wie 6:1. Normaler Weise war im Harne des Hundes das Verhältniss der Schwefelsäure der Salze zu den Aetherschwefelsäuren wie 6:1 bis 30:1. Eine erhebliche Bildung von Aetherschwefelsäuren findet hiernach bei der Fütterung mit Orthooxychinolincarbonsäure nicht statt.

Methyltrihydroorthooxychinolincarbonsäure.

Interessantere Resultate haben wir bei den Versuchen mit der methylirten Trihydrosäure erhalten. Da nach den ersten Versuchen von Prof. Demme die meiste Aussicht auf praktische Verwerthung gerade dieses Präparat hatte, so war es wünschenswerth, die Ausscheidungsform der Säure genau festzustellen.

Die methylirte Hydrosäure ist in kaltem Wasser und Alkohol wenig löslich, leicht dagegen in heissem und lässt sich daraus gut umkrystallisiren. Vom Aether wird sie nur in Spuren gelöst. Aus wässeriger Lösung krystallisirt sie mit zwei Molekülen Krystallwasser, die sie bei 100° vollständig verliert. Die Lösungen der Säure werden durch Eisenchlorid tiefroth gefärbt. Das von uns verwendete Präparat schmolz im Capillarrohr bei 216° (uncorrig.). Nach R. Schmidt und F. Engelmann schmilzt sie bei 211°. Eine Krystallwasserbestimmung des von uns verwendeten Präparates ergab einen Gewichtsverlust, welcher der Formel $C_9H_5NCH_3(OH)(CO_2H)H_3 + 2H_2O$ entspricht.

0.4893 g Substanz verloren 0.072 g an Gewicht, also 14.71 Proc. Ber. 14.81 Proc.

Dosen von 2.0 g der Säure pro die wurden vom Hunde gut vertragen. In späteren Versuchen an Menschen wurden ohne jeden Nachtheil 4.0 bis 5.0 g täglich in eingrammigen Dosen verabreicht. Der danach gelassene Harn wird, ähnlich wie die freie Säure, durch Eisenchlorid tiefroth gefärbt. Der bis zur syrupartigen Consistenz eingedampfte Harn wurde nach Erkalten mit Alkohol extrahirt. Das alkoholische Filtrat wurde abermals bis zum Syrup eingedampft und nach Erkalten mit reiner Salzsäure angesäuert und in einer Schüttelflasche mit Aether extrahirt.

Man konnte nun sehen, wie nach dem Schütteln mit Aether und ruhigem

Absetzen am Boden der Flasche ein krystallinischer Niederschlag sich bildete. Wie die spätere Untersuchung zeigte, war dieser in Aether unlösliche Körper die unveränderte Methyltrihydroorthooxychinolincarbonsäure, während in den Aether in minimalen Mengen eine ebenfalls krystallinische Substanz überging, die durch Eisenchlorid nicht roth, sondern blau gefärbt wurde. Leider war die Menge der in Aether löslichen Säure sehr gering, so dass nach Verfütterung von 30 g der Methyltrihydroorthooxychinolincarbonsäure wir aus dem Hundeharn kaum $^1/_4$ g an Rohproduct erhalten konnten. In etwas grösserer Menge wird diese in Aether lösliche Säure im menschlichen Organismus gebildet, oder sie lässt sich wenigstens aus dem Menschenharn leichter gewinnen, und da tägliche Dosen der Methyltrihydrooxychinolincarbonsäure von 4 bis 5 g nicht nachtheilig waren, so haben wir, um die Substanz in grösseren Mengen zu gewinnen, die Versuche an Menschen angestellt. Der nach Verabreichung von 50 g der Säure in der oben angegebenen Weise verarbeitete Harn wurde mit Aether extrahirt und die ätherischen Auszüge gesammelt. Der in Aether unlösliche krystallinische Niederschlag wurde auf Filter gebracht, mit wenig Wasser nachgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und mehrere Male aus siedendem Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. So wurde die Substanz schliesslich in farblosen Prismen erhalten, die sich in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid tiefroth färbten und sonst alle Eigenschaften der Methyltrihydroorthooxychinolincarbonsäure besassen.

1. 0.2068 g lufttrockener Substanz verloren bei 100° bis zu constantem Gewicht getrocknet 0.0312 g = 15.08 Proc. Die Formel $C_9H_5NCH_3(OH)(CO_2H)H_3 + 2H_2O$ verlangt einen Gewichtsverlust von 14.81 Proc.

2. 0.2281 der bei 100° getrockneten Substanz gaben bei der volumetrischen N-Bestimmung im Zulkowski'schen Apparate über 25 Proc. Kalilauge 15.2 ccm bei 707 mm Bst. und 19° C., oder 7.08 Proc. N. Die Formel $C_9H_5N(CH_3)(OH)(CO_2H)H_3$ verlangt 6.76 Proc. N.

Der Schmelzpunkt des aus dem Harne erhaltenen Präparates lag bei 216°, genau entsprechend dem Schmelzpunkt der verfütterten Säure. Es ist nicht gut möglich, die Ausbeute an unveränderter Säure aus dem Harne zu bestimmen. Nach ungefährer Schätzung wurden aber etwa 70 bis 80 Proc. davon zurückgewonnen.

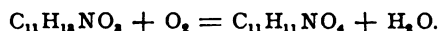
Die vereinten Aetherauszüge des Harnes wurden abdestillirt. Der Aetherrückstand wurde mit wenig Wasser versetzt, wodurch neben braunen, harzigen Substanzen ein krystallinischer, sandig anzufühlender Körper abgeschieden wurde. Durch Waschen des abfiltrirten Niederschlages mit wenig 50 proc. Alkohol wurde der grösste Theil der braunfärbenden Substanzen entfernt. Zur weiteren Reinigung haben wir den Rückstand in verdünntem Ammoniak gelöst, filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure versetzt. Es entstand dabei ein schon ziemlich weisser, dicker, gelatinöser Niederschlag, der beim Schütteln körnig wurde. Die abfiltrirte, gut ausgewaschene und an der Luft getrocknete Substanz wurde schliesslich aus heissem 75 proc. Alkohol umkrystallisirt, woraus sie sich beim Erkalten und allmählichen Verdunsten des Alkohols in schönen rhombischen Nadeln und Prismen ausscheidet. Die so erhaltene und über Schwefelsäure getrocknete Substanz erwies sich als chlor- und schwefelfrei. Sie ist in Wasser fast unlöslich, leicht löslich in Alkohol und Aether,

ebenso in Alkalien, woraus sie durch Säuren als ein amorpher weisser Niederschlag gefällt wird. Die über H_2SO_4 getrocknete Substanz verliert bei 100 bis 110° im Luftbade nichts an Gewicht. Die Lösungen der Säure werden durch Eisenchlorid blau gefärbt; die Farbe ist nicht beständig und geht allmählich durchs Violette ins Braunroth über. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 254 bis 255° unter Gasentwickelung. Die Elementaranalyse der aus Alkohol umkrystallisirten Substanz ergab nur folgende Zahlen:

1. 0.2109 g gaben 0.4594 g CO_2 und 0.0906 g H_2O, gleich 59.4 Proc. C und 4.77 Proc. H.

2. 0.2116 g gaben 13.7 ccm N-Gas bei 20.8° C. und 718 mm Bst., entsprechend 6.7 Proc. N.

Die erhaltenen Zahlen stehen am nächsten der empirischen Formel $C_{11}H_{11}NO_4$, welche 59.72 Proc. C, 4.97 Proc. H und 6.33 Proc. N verlangt. Die Bildung dieser Säure im Organismus aus der Methyltrihydroorthooxychinolincarbonsäure erklärt sich danach sehr einfach:

$$C_{11}H_{13}NO_3 + O_2 = C_{11}H_{11}NO_4 + H_2O.$$

Von den drei Wasserstoffen der Hydrosäure würden also zwei zu Wasser und eines zu Hydroxyl oxydirt, so dass die erhaltene Säure als eine Methyldioxychinolincarbonsäure, $C_9H_3NCH_3(OH)_2(CO_2H)$, aufzufassen wäre. Leider reichte unser Material gerade für die mitgetheilten Analysen aus. Da uns aber diese Frage interessirte und wir völlige Sicherheit über die Natur der Säure haben wollten, so wurde der Versuch nochmals wiederholt. Harn von Patienten nach Verabreichung von 50 g der Methyltrihydrosäure wurde wie oben mitgetheilt verarbeitet und die nach Abdestilliren des Aethers hinterbliebene Substanz mit wenig Alkohol auf ein Filter gebracht, sodann zwischen Fliesspapier abgepresst und aus heissem 60 proc. Alkohol umkrystallisirt. Die beim Erkalten des heissen Filtrates in schönen glitzernden Krystallen abgeschiedene Säure wurde an der Luft, hierauf bei 100° getrocknet und ergab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.2452 g gaben 0.5366 g CO_2 und 0.1115 g H_2O oder 59.68 Proc. C und 5.05 Proc. H.

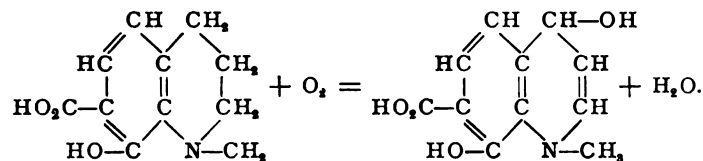
0.2463 g gaben 0.539 g CO_2 und 0.111 g H_2O oder 59.68 Proc. C und 5.00 Proc. H. Die oben aufgestellte Formel $C_{11}H_{11}NO_4$ verlangt 59.72 Proc. C und 4.97 Proc. H.

Im Capillarröhrchen schmolz die Substanz genau wie das vorige Präparat unter Gasentwickelung bei 254 bis 255°.

Durch Verdunsten der Mutterlauge der ersten Krystallisation kann noch mehr von der Säure gewonnen werden, jedoch nicht in ganz reinem Zustande. Die zweite Krystallisation schmilzt bei niedriger Temperatur und erscheint bräunlich gefärbt, weshalb wir auch keine Metallverbindungen der Säure mehr darstellen konnten. Die Uebereinstimmung der Zahlen beider von verschiedener Darstellung herrührender Präparate beweist aber hinlänglich, dass sie nach der Formel $C_{11}H_{11}NO_4$ zusammengesetzt ist.

Die Wasserstoffe der Hydrosäure werden demnach im Organismus zu Wasser

oxydirt. Die einfache Bindung im Pyridinkern wird dadurch wieder eine doppelte, wie dies das folgende Schema veranschaulicht:

```
           CH  CH2                            CH  CH—OH
          //  \/  \                          //  \/   \
        HC    C    CH2                     HC    C     CH
         |    ||   |      + O2 =            |    ||    ||    + H2O.
 HO2C—C      C    CH2               HO2C—C      C     CH
         \\  / \  /                         \\  / \   /
     HO—C      N—CH3                    HO—C      N—CH3
```

Aetherschwefelsäuren werden nach Darreichung von Methyltrihydrooxychinolincarbonsäure im Harne nicht vermehrt. So enthielten 100 ccm Hundeharn (435 ccm 24 stündige Harnmenge) nach Eingabe von 2 g der Säure 0.1417 g Schwefelsäure der Salze und 0.0129 g Aetherschwefelsäure. Verhältniss wie 11:1.

Bemerkenswerth ist es, dass nur ein ganz geringer Theil der verfütterten Säure zu Dioxychinolincarbonsäure im Organismus oxydirt wurde. Aehnlich ist wohl auch das Verhalten anderer Chinolinverbindungen im Organismus. Giacomo Carrara [1]) hat nach Eingabe von Antipyrin, Thallin und Kairin dieselben unverändert im Harne nachgewiesen. Es wäre aber voreilig, daraus den Schluss zu ziehen, dass die genannten Substanzen auch nicht in einer anderen Form den Organismus verlassen. Umbach [2]) hat z. B. constatirt, dass, während beim Menschen das Antipyrin keine merkliche Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harne verursacht, dies in ausgesprochener Weise beim Hunde der Fall ist. Allem Anscheine nach wird auch ein geringer Theil der Tetrahydrooxychinolincarbonsäure zu einer Dioxydihydrosäure oxydirt. Wir haben mit dieser Säure nur wenige Versuche angestellt und bloss constatiren können, dass nach Eingabe der Tetrahydroorthooxychinolincarbonsäure in den Aetherextracten vom Menschen- wie vom Hundeharne in minimalen Mengen eine krystallinische Säure sich vorfindet, deren Lösung durch Eisenchlorid ebenfalls blau gefärbt wird.

Wir haben die drei genannten Säuren auch auf ihre antiseptischen Wirkungen geprüft, jedoch mit ziemlich negativem Resultate. Verhältnissmässig noch die stärkste entwickelungshemmende Wirkung kommt der Oxychinolincarbonsäure zu.

---

[1]) Maly's Jahresbericht **16**, 88.

[2]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **21**, 163. — Dieser Band S. 27.

Neuerung in dem Verfahren zur Darstellung von Salolen

von

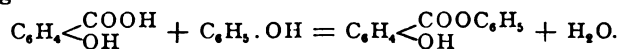
M. Nencki und **F. v. Heyden.**

D. R.-P. Nr. 43713 vom 22. Juli 1887, Cl. 22. Zusatz zum Patent Nr. 38973 (Dieser Band S. 65) vom 23. April 1886. Ber. **21**, 554, Ref.

Bei dem durch das Hauptpatent geschützten Verfahren zur Darstellung von Salolen durch Behandlung von Salicylsäure und Phenol oder salicylsaurem Natron und Phenol oder salicylsaurem Natron und Phenolnatrium mit Phosphoroxychlorid oder Phosphorpentachlorid können an Stelle von Phosphoroxychlorid, $POCl_3$, oder Phosphorpentachlorid, PCl_5, mit gleichem Erfolge Phosphortrichlorid, PCl_3, Schwefeloxychlorid, SO_2Cl_2, ferner saure und mehrfach saure Sulfate der Alkalien angewendet werden.

Lässt man z. B. zu einem geschmolzenen Gemisch von 1 Molekül Salicylsäure und 1 Molekül Phenol Phosphortrichlorid fliessen, so erhält man Salol, etwas verunreinigt durch Triphenylphosphit, $P(OC_6H_5)_3$, einen öligen Körper, der wegen seiner grossen Löslichkeit in Alkohol leicht beseitigt werden kann. Bei der Darstellung von Salol mittelst SO_2Cl_2 empfiehlt es sich, salicylsaures Natrium und Phenol oder Phenolnatrium anzuwenden.

Die sauren Sulfate der Alkalien wirken beim Erhitzen mit einem Gemisch von Salicylsäure und Phenol wasserentziehend, unter Bildung von Salol, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_4<^{COOH}_{OH} + C_6H_5.OH = C_6H_4<^{COOC_6H_5}_{OH} + H_2O.$$

Andere wasserentziehende Salze geben Ketone, was schon im Hauptpatent angeführt wurde. Bei allen im Hauptpatent sowie hier beschriebenen Darstellungsweisen des Salols kann dem Gemisch von Salicylsäure und Phenol oder deren Salzen ein Lösungs- oder Verdünnungsmittel zugesetzt werden. Hierzu eignen sich besonders Kohlenwasserstoffe, wie Benzol, Toluol, hochsiedendes Erdöl u. s. w. Das Lösungsmittel wird, nachdem alles Phosphoroxychlorid und Phosphortrichlorid reagirt hat, abdestillirt, das zurückbleibende Salol mit Wasser oder Soda gewaschen und, wenn nöthig, aus Alkohol umkrystallisirt. An Stelle von Salicylsäure können noch andere Säuren, nämlich α-Oxynaphtoësäure, o- und p-Nitrosalicylsäure, Resorcincarbonsäure und an Stelle von Phenol andere phenolartige Körper in die Reaction eingeführt werden, nämlich Resorcin, Pyrogallol, Thymol, Nitrophenol, α- und β-Naphtol, Dioxynaphtalin, Gaultheriaöl, $C_6H_4(OH).COOCH_3$, und Salol, $C_6H_4(OH).COOC_6H_5$, für letzteres auch das zu seiner Herstellung erforderliche Gemisch von Salicylsäure, Phenol und Chlorid. Die Darstellung dieser Körper geschieht in analoger Weise, wie oben bei Verwendung von Salicylsäure und Phenol beschrieben ist.

Die Schmelzpunkte der wichtigsten Salole, welche als Medicamente Verwendung finden sollen, sind:

Salol 43°; α-Naphtylsalicylat 83°; β-Naphtylsalicylat 95°; Resorcinmonosalicylat 141°; Resorcindisalicylat 111°; Gaultheriasalol 86°; Pyrogallylsalicylat 41°; Phenyl-α-oxynaphtoat 96°; Phenylorthonitrosalicylat 102°; Phenylparanitrosalicylat 152°; p-Nitrophenylsalicylat 148°; Thymolsalicylat flüssig; Disalol desgl.; β-Naphtol-α-oxynaphtoat 138°; β-Naphtohydrochinonsalicylat 137°; Phenylresorcincarbonsäureester 146°.

Ueber die Condensationsproducte von Formaldehyd mit Harnstoff und Sulfoharnstoff

von

H. Polikier.

Inaug.-Dissert. Bern. Nach dem Referate von Dr. Lüdy. Monatsh. f. Chem. **10**, 297.

Prof. Nencki beobachtete, dass Formaldehyd, welches nach den Arbeiten von Loew[1]) in concentrirter wässeriger Lösung leicht erhältlich ist, mit salzsäurehaltigen Lösungen von Harnstoff zusammengebracht, ein Condensationsproduct giebt, das sich als ein schneeweisser körniger Niederschlag abscheidet und sowohl in Wasser, als auch in Alkohol unlöslich ist. Auf Wunsch von Prof. Nencki wurde dieser Körper vom Verfasser untersucht. Es hat sich erwiesen, dass der Körper nach der Formel $C_2H_4N_2O$ zusammengesetzt ist, also $CO{<}^{NH}_{NH}{>}CH_2$-Methylenharnstoff ist. Leider ist die Bildung dieses Körpers nicht eine gleichmässige und hängt von der Concentration des Formaldehyds ab. So hat in einem Versuche Herr Polikier fünf Kölbchen aufgestellt, wovon jedes circa eine einem Gramm Harnstoff entsprechende Menge frisch bereiteter Formaldehydlösung und 2 ccm 30 proc. Salzsäure enthielt. Der Procentgehalt an reinem Formaldehyd wurde durch Ueberführung in das Hexamethylentetramin[2]) ermittelt. Alle Kölbchen wurden gleichzeitig auf etwa 60° erwärmt, dann verkorkt und bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Nach kurzer Zeit wurde der Inhalt der Kölbchen trübe. Nach 24 Stunden wurden die Proben mit gleichen Mengen Wasser versetzt, die entstandenen Niederschläge von Methylenharnstoff mit Wasser und Alkohol ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Die erhaltenen Resultate veranschaulicht folgende Tabelle:

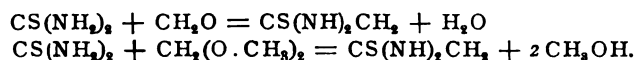
---

[1]) Journ. prakt. Chem. **33**, 321.
[2]) Ber. **16**, 1333.

Harnstoff in g	CH_2O in ccm	Concentration des CH_2O Proc.	Erhaltene Menge von Methylenharnstoff in g	Procente der Ausbeute
1.0840	36	4.60	0.2880	22.13
0.9865	19	8.10	0.5142	43.50
0.9175	10	13.60	0.3450	31.33
1.2600	9	22.00	0.8725	57.70
1.3325	8	26.98	1.4460	90.45

Aus diesen Zahlen geht hervor, dass, je grösser die Concentration des Formaldehyds ist, desto grösser die Ausbeute. Sodann ist Methylenharnstoff in wässeriger Salzsäure ein wenig löslich; werden die Filtrate mit Soda neutralisirt, so trübt sich die Flüssigkeit und nach längerer Zeit entsteht ein merklicher Niederschlag von ausgefälltem Methylenharnstoff. Ferner muss die Formaldehydlösung möglichst frisch sein und auch kein Methylalkohol oder Aceton enthalten. Eine drei Wochen alte Lösung des Formaldehyds gab mit Harnstofflösung einen viel geringeren Niederschlag als eine frisch bereitete. Wird der Harnstoff nicht in fester Form angewendet, so ist es nöthig, die Lösung möglichst concentrirt zu haben.

Versuche, aus Harn mittelst Formaldehyd den Harnstoff vollkommen auszufällen, ergaben keine befriedigenden Resultate, indem die Menge des erhaltenen Methylenharnstoffes keine constante, aber stets eine geringere war als die mit dem Hüfner'schen Apparate gefundene. Aehnlich wie aus dem Harnstoff wird aus Formaldehyd und Sulfoharnstoff ein weisser, amorpher, bei 200 bis 203⁰ schmelzender Körper erhalten, der Methylensulfoharnstoff. Dieser letzte wird ferner erhalten durch Einwirkung von Methylal auf Sulfoharnstoff. Die Reactionen verlaufen wie folgt

$$CS(NH_2)_2 + CH_2O = CS(NH)_2CH_2 + H_2O$$
$$CS(NH_2)_2 + CH_2(O.CH_3)_2 = CS(NH)_2CH_2 + 2\,CH_3OH.$$

Bacteriologisch-chemische Untersuchungen einiger Spaltpilzarten

von

James Kunz.

Monatsh. f. Chem. 9, 361. Nach dem Referate v[on] Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresb[er.] 18, 351.

Bacillus strumitis Tavel. Dieser von Tavel bei zwei Strumitiden in der Punctionsflüssigkeit der Struma cystica aufgefundene Bacillus erzeugt in Pepton-fleischwassergelatine neben Kohlensäure geringe Mengen von Gährungsmilchsäure. In einer mit Kochsalz, Pepton und Calciumcarbonat versetzten Traubenzuckerlösung entstand neben Milchsäure auch Bernsteinsäure; Milch wurde durch den Bacillus nicht verändert.

Bacillus pyocyaneus. Um den durch diesen Bacillus erzeugten, bereits von Fordos (Compt. rend. **51**, 1859), Girard (Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie 1876) und Anderen untersuchten blauen Farbstoff in grösserer Menge zu erhalten, züchtete Verf. die Mikrobe auf Nährgelatine. Nach dem Girard'schen Verfahren konnten auch die beiden von demselben angegebenen Farbstoffe des blauen Eiters, das Pyocyanin und die Pyoxanthose, erhalten werden. In der rückständigen Flüssigkeit verblieb noch ein dritter, eine prachtvolle grüne Fluorescenz bedingender Körper. Zur Reinigung des Pyocyanins wurde die aus Chloroform krystallisirte Base nochmals in Chloroform gelöst und mit Aether gefällt. Das ausfallende Pyocyanin war nicht hygroskopisch und betrug aus 6 kg Nährlösung nur wenige Centigramme. Es erwies sich als stickstoff- und schwefelhaltig, was mit den Resultaten von Ledderhose (Tageblatt der Versammlung deutscher Naturforscher in Wiesbaden 1887, S. 295 — Ref. in Maly's Jahresber. **17**, 469) nicht stimmt.

Koch'scher Kommabacillus. Verf. cultivirte den Cholerabacillus auf einer Nährflüssigkeit, die aus 300 g trockenem Serumeiweiss, vier frischen, fein zerhackten Ochsenpankreasdrüsen und 6 Litern Wasser hergestellt war. Nach dreitägigem Stehen bei 35° wurden die Culturen nach dem Brieger'schen Verfahren (Untersuchungen über Ptomaïne 3. Theil — Ref. in Maly's Jahresber. **17**, 485) verarbeitet und dabei ein Gemenge von Platinsalzen erhalten, dessen Chlorhydrate sich giftig erwiesen (Maus). Durch fractionirtes Krystallisiren ergab sich ein schwerer lösliches Chloroplatinat einer nicht toxisch wirkenden Base, dessen Analyse zur Formel $(C_2H_5N)_2H_2PtCl_6$ führte. Verf. hält dieselbe für identisch mit der Base von Schreiner, dem Spermin; es entwickelte wie dieses mit Lauge Spermageruch und gab mit Natriumphosphat und Ammoniak Krystalle der gleichen Form, wie sie Schreiner abbildet. Das Spermin ist ein Product der Cholerabacillen und nicht etwa bereits in der Nährflüssigkeit enthalten, wie sich Verf. durch einen Controlversuch überzeugte.

Bacterium phosphorescens. Von vorwiegend bacteriologischem Interesse.

Ueber die chemische Zusammensetzung der Bacillen des Erythema nodosum

von

V. Bovet.

Monatsh. f. Chem. **9**, 1154. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **19**, 518.

Prof. Demme in Bern (Fortschritte der Medicin, April 1888) hat bei mehreren Fällen von Erythema nodosum stäbchenförmige Mikroorganismen aufgefunden, die in Folge von Uebertragungsversuchen an Meerschweinchen diese Hautkrankheit verursachen. Dieselben wurden in Pepton-Glycerin-Bouillon gezüchtet. Nach acht Tagen war eine dicke Schicht von an den Boden des Kolbens gesunkenen Bacterien

sichtbar, während sich die Flüssigkeit zu klären begann. Die Bacterien, auf Leinwandläppchen abfiltrirt und ausgewaschen, hinterblieben als ein gerucl gelblicher Rückstand. Die lufttrockene Masse verlor bei 110° 71.19 Proc. V und zeigte dann die folgende Zusammensetzung: In Alkohol lösliche 8.97 Proc., nur in Aether lösliche Stoffe 1.99 Proc., Asche 7.5 Proc., Eiweis 64.2 Proc. (aus dem Stickstoffgehalt), Cellulose und sonstige stickstofffreie Subst 17.34 Proc. Der Alkoholextract erwies sich bei subcutaner Einführung als un

---

Ausserdem hat Herr M. Reicher in diesem Jahre im Laboratorium von M. Nencki seine Untersuchungen über das Erdwachs ausgeführt. Die erhaltenen tate sind im Drucke als Inaugural-Dissertation unter dem Titel „Ueber das Ha galizischen Erdwachses" erschienen. H.

1889

Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze

von

M. Nencki.

Monatsh. f. Chem. **10**, 506. — Gazeta Lekarska Nr. 37, 38.

Die aromatischen Spaltungsproducte.

Seit meinen im Jahre 1876[1]) publicirten Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses und der Gelatine bei der Fäulniss mit Pankreas sind unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete durch die Arbeiten von Gautier in Frankreich, Baumann, Salkowski und Brieger in Deutschland sehr umfangreich geworden. Brieger's verdienstvolle Arbeiten haben gezeigt, wie zahlreich und mannigfaltig die basischen Fäulnissproducte sind, und namentlich, dass durch besondere Spaltpilzspecies, wie z. B. die Tetanus- und Typhusbacillen, ihnen eigenthümliche, giftige Toxine gebildet werden.

Ich habe mit grossem Interesse jede auf diesem Gebiete neu aufgefundene Thatsache verfolgt, obgleich durch die Arbeiten über die physiologische Oxydation, die Anaërobiose und namentlich über den Blutfarbstoff in Anspruch genommen, ich mich in den letzten Jahren an diesen Untersuchungen weniger, als ich gewünscht hätte, betheiligen konnte. Erst nach Feststellung der Zusammensetzung des Hämatoporphyrins haben wir im vergangenen Jahre diese Untersuchungen wieder aufgenommen und es sollen die erhaltenen Resultate der Gegenstand der folgenden Mittheilungen sein.

Ein wesentlicher Fortschritt in der Gährungschemie datirt, seit durch die Ausbildung der bacteriologischen Methoden es keine grosse Schwierigkeit hat, eine be-

[1]) Bern 1876, im Verlag von Dalp. — Nencki's Opera omnia **1**, 181.

stimmte Pilzspecies in Reincultur zu erhalten. Den besten Beweis dafür werden die Resultate der vorliegenden Untersuchung abgeben.

Gemeinschaftlich mit Dr. V. Bovet habe ich die Zersetzung des Serumeiweisses durch drei anaërobiotische Bacillenarten, nämlich den Bacillus liquefaciens magnus, den Bacillus spinosus und die Rauschbrandbacillen studirt. Die Reinculturen der zwei ersten, nicht pathogenen Arten hat uns der Entdecker derselben, Herr Dr. Carl Lüderitz[1]) in Berlin, bereitwilligst zur Verfügung gestellt. Die Reinculturen des Rauschbrandes haben wir uns selber hergestellt. Rauschbrand (Charbon emphysémateux du boeuf, charbon symptomatique, emphysema infectiosum) gehört in der Schweiz und speciell im Berner Oberland zu den häufigsten und gefährlichsten Infectionskrankheiten des Rindes. So sind im Canton Bern vor der Einführung der Schutzimpfung im Jahre 1884 815 Stück an Rauschbrand und nur 73 Stück an Milzbrand umgestanden[2]). Wir verdanken unseren Impfstoff Herrn Dr. Hess, Professor an der Veterinärschule hierselbst. Es ist dies die bei 35° eingetrocknete und pulverisirte seröse Flüssigkeit des Tumors eines an Rauschbrand verendeten Rindes. Dieses Pulver behält länger als ein Jahr seine Virulenz, wenn es nur mit etwas Säure und Zucker einem Thiere injicirt wird[3]). Wir benutzten zu unseren Versuchen Meerschweinchen, die besonders dafür empfänglich sind. Etwa 0.1 g des Pulvers wurden in 3 ccm 50 proc. Traubenzuckerlösung eingeweicht und mit einem Tropfen Milchsäure versetzt. Meistentheils injicirten wir eine Pravaz'sche Spritze von dieser Flüssigkeit in die Hinterbacke, worauf die Thiere ausnahmslos in 18 bis 24 Stunden am typischen Rauschbrand zu Grunde gingen. Kurz vor dem Tode wurden den erkrankten Meerschweinchen die Haare auf der Geschwulst abrasirt, die Stelle mit Sublimat abgewaschen, unter antiseptischen Cautelen incidirt und etwas von der serösen Flüssigkeit aus dem Tumor in capillare Gläschen eingesogen. Mit dieser Flüssigkeit wurde sofort Nährgelatine und Agar geimpft, die geimpfte Nährlösung nach Esmarch ausgerollt und nach dem Erstarren mit einer Schicht Nährgelatine oder flüssigem Paraffin bedeckt. Der Wattepfropf wurde noch mit einer Kautschukkappe geschlossen. Enthält das Agar etwa 3 Proc. Glycerin, so wachsen bei Bruttemperatur am zweiten und dritten Tage die einzelnen Colonien heraus, aus welchen dann leicht durch Uebertragung Reincultur der Stäbchen erhalten werden kann. Auch bei der Nährgelatine ist Glycerinzusatz für das Wachsthum sehr förderlich. Da die Röhrchen jedoch nicht bei Bruttemperatur gehalten werden können, so sind die ersten Colonien erst am vierten und achten Tage sichtbar. Es ist dies — die sogenannte hohe Cultur — die bequemste Art, Anaëroben zu züchten. Der Sauerstoffausschluss ist kein vollständiger, aber die im Nährboden gelösten Spuren hindern das Wachsthum nicht. Anfangs haben wir die nach Esmarch ausgerollten Röhrchen mit Wasserstoff gefüllt, oder auch durch ein angeschmolzenes T-Rohr, das alkalisches Pyrogallol enthielt, die Culturröhrchen völlig sauerstofffrei gehalten. Die Herstellung derselben ist aber immer zeitraubend und umständlich. Die nach der

[1]) Koch und Flügge, Zeitschrift für Hygiene **5**, 141 (1888).

[2]) E. Hess, Thiermedicinische Vorträge. Herausgegeben von Dr. S. Schneidemühle in Halle a. d. S., **1**, Heft 4.

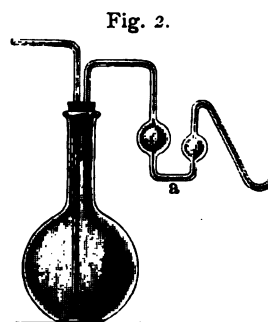
[3]) Vergl. hierüber Arloing et Cornevin, Compt. rend. **103**, 1078.

vierten oder fünften Uebertragung erhaltenen reinen Rauschbrandbacillen üben keine pathogene Wirkung mehr auf Meerschweinchen aus, verflüssigen aber rasch Gelatine und zersetzten Eiweiss unter Bildung weiter unten zu beschreibender Producte.

Dass die Rauschbrandbacillen und die des malignen Oedems (B. de la septicémie gangréneuse) Eiweiss zersetzen, hat schon S. Arloing[1]) gesehen, jedoch die entstandenen Spaltungsproducte nicht untersucht und nur die dabei auftretenden Gase analysirt. Herr Dr. Bovet wird auf die Gasanalysen Arloings später noch einmal zurückkommen.

Um die Spaltungsproducte der Eiweissstoffe durch anaërobe Mikroben zu untersuchen, habe ich folgenden Weg eingeschlagen: In Kolben von vier bis zehn Liter Inhalt wurde käufliches Serumeiweiss mit Wasser übergossen, sodann mit einem festen Wattepfropf verschlossen und in einem Dampfapparat viermal jeden zweiten Tag $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden lang auf 100° erhitzt. Es ist dies eine discontinuirliche Sterilisation bei 100°, wodurch auch Spaltpilze, die höhere Temperaturen vertragen, wie z. B. der Bacillus thermophilus von Miquel, abgetödtet werden mussten. Die so behandelten Kolben bleiben in der That auch Monate lang steril. Die Kolben wurden jetzt mit passenden, doppelt durchbohrten und mit Gaszuleitungs- und Ableitungsrohr versehenen Kautschukstopfen verschlossen. Das Ableitungsrohr hatte die nebenstehend abgebildete Form. (Siehe Fig. 2 *a*.) In die Biegung (*a*) wurde etwas Quecksilber als Sperrflüssigkeit eingebracht und darauf etwas 2 proc. Sublimatlösung gegossen. Sowohl die Glasröhren, wie der Kautschukstopfen wurden vorher durch heisse Sublimatlösung desinficirt. Jetzt wurde der Kolbeninhalt mit der im Reagensröhrchen befindlichen Reincultur geimpft und die Luft aus dem Kolben durch Stickstoff, Wasserstoff oder Kohlensäure vollständig verdrängt. Für das Wachsthum der Anaëroben scheinen die beiden ersten Gase günstiger zu sein. Kohlensäure hat den Uebelstand der Löslichkeit in Wasser und namentlich in dem alkalischen Serumeiweiss, weshalb wir bei unseren Versuchen das Alkali durch vorherigen Zusatz von Essigsäure abstumpften. Auch hat Kohlensäure auf das Wachsthum der Pilze eine verzögernde Wirkung, doch trat bei der Bruttemperatur bei allen von uns untersuchten anaërobiotischen Arten Gährung ein, vorausgesetzt, dass der Nährboden für die betreffende Pilzart geeignet war.

Fig. 2.

Da Kohlensäure am leichtesten erhältlich ist — wir entwickelten sie aus gepulvertem geschlämmtem Kalkcarbonat —, so wurden die meisten unserer Versuche in Kohlensäureatmosphäre angestellt. Für die Darstellung von völlig reinem Stickstoff habe ich folgendes Verfahren eingeschlagen, das sich als praktisch im Laboratorium seither bewährte: Atmosphärische Luft wurde zunächst durch einen grösseren Ballon geleitet, in welchem sich alkalisches Pyrogallol befand und zwar im Verhältniss von 2.5 g Pyrogallol auf ein Liter 6 proc. Kalilauge. Es ist dies nach Weil und Zeitler[2]) für die Absorption des Sauerstoffes die günstigste Concen-

[1]) Compt. rend. **103**, 1268 (1886).

[2]) Ann. Chem. Pharm., **205**, 263 (1880).

tration. Hierauf passirt die Luft ein in einem Verbrennungsofen befindliches an beiden Enden offenes Rohr, das ganz mit metallischem, grobkörnigem Kupfer gefüllt ist. Es ist nöthig, das Rohr in starkem Glühen zu erhalten. Nach etwa einhalbstündigem Durchleiten ist das austretende Gas völlig sauerstofffrei. Man lässt das austretende Gas durch eine im Liebig'schen Kugelapparat befindliche Pyrogallollösung passiren. Ist auch hieraus alle Luft verdrängt, so wird in den Kugelapparat ausgekochte Kalilauge eingesogen. Tritt keine Bräunung ein, so wird das Gas durch die Nährlösung durchgeleitet. Nach etwa einstündigem Durchleiten ist aller Sauerstoff verdrängt und das austretende Gas bräunt alkalisches Pyrogallol nicht mehr. Das Kupfer im Rohr reicht hin, um aus drei bis vier Kolben den Sauerstoff zu verdrängen. Um das entstandene Kupferoxyd wieder zu reduciren, wurde es in einem Tiegel wie bei Elementaranalysen zum Glühen erhitzt und noch glühend in in einer Porzellanschale befindlichen Alkohol hineingeschüttet. Es ist hierbei bei einiger Vorsicht keine Gefahr vorhanden. Das erhaltene metallische Kupferpulver wird auf Fliesspapier an der Luft getrocknet und kann von Neuem benutzt werden.

In Fällen, wo ich die Gase analysiren wollte, habe ich mit Vortheil den nebenbei abgebildeten Kolben benutzt. (Siehe Fig. 3.) Durch das etwa 8 mm weite Rohr (*a*) von leicht schmelzbarem Glase können nicht allein Flüssigkeiten, sondern auch gröbere Partikel, wie z. B. die des käuflichen Serumeiweisses, leicht eingebracht werden. Der Kolben sammt Inhalt wird bei 100° discontinuirlich sterilisirt, durch das Rohr (*a*) die Impfflüssigkeit eingegossen, dann das Rohr bei (*b*) rechtwinkelig umgebogen, etwas verjüngt ausgezogen und hierauf, während das Ende (*c*) in eine mit Quecksilber gefüllte Schale taucht, die Luft durch Kohlensäure, Wasserstoff oder Stickstoff verdrängt. Hat man sich überzeugt, dass die Luft völlig ausgetrieben ist, so wird das Rohr an der verjüngten Stelle noch während des Durchleitens des Gases zugeschmolzen. Auf die Weise ist jeder Kautschukverschluss und die dadurch bedingten Diffusionsfehler vermieden. Gewöhnlich liess ich die geimpften Kolben zwei bis drei Wochen bei Bruttemperatur stehen. Nach Verlauf dieser Zeit ist das Eiweiss bis auf einen kleinen Rest in Lösung gegangen. Am zweiten bis dritten Tage wird durch die ersten Gasblasen die beginnende Zersetzung angezeigt. Die stärkste Gasentwickelung findet am fünften bis achten Tage statt, von da ab lässt sie allmählich nach, ohne jedoch auch nach vier Wochen gänzlich aufzuhören. Das von Kali nicht absorbirte Gas besteht nur aus Wasserstoff. Weder durch den Rauschbrandbacillus, noch durch Bacillus liquefaciens magnus oder spinosus wird aus Serumeiweiss Grubengas entwickelt.

Fig. 3.

Die Verarbeitung der vergährten Flüssigkeit[1]) geschah in folgender und zwar in allen Versuchen gleicher Weise, nachdem ich gesehen habe, dass wenigstens, was

[1]) Meinen früheren Auseinandersetzungen entsprechend (siehe Archiv f. experiment. Path. u. Pharm. **21**, 299 u. ff. — Dieser Band S. 1, „die Anaërobiose und die Gährungen" von M. Nencki), bezeichne ich jede Zersetzung organischer, also auch stickstoffhaltiger Substanzen durch Anaëroben mit dem Worte Gährung. Gährung ist Leben ohne atmo-

die mit Wasserdämpfen flüchtigen und die aromatischen Producte betrifft, durch alle die drei untersuchten Pilzarten die gleichen Substanzen entstehen.

Nach Oeffnen des Kolbens wurde zuerst die Flüssigkeit bezüglich der Reinheit der ausgesäeten Mikroben mikroskopisch untersucht und Uebertragungen auf Nähragar und Nährgelatine gemacht. Ausser beweglichen Bacillen waren in den vergährten Flüssigkeiten stets sporenhaltige und auch freie Sporen in Menge vorhanden. Der Kolbeninhalt wurde dann in einer tubulirten Retorte mit krystallisirter Oxalsäure — auf je 50 g trockenen Eiweisses 20 g der Säure — versetzt und destillirt. In das Destillat gehen über ausser den später zu beschreibenden gasförmigen Producten noch die flüchtigen Fettsäuren bis zur Capronsäure inclusive. Dagegen finden sich darin weder Phenol noch Indol oder Skatol. Auch enthalten die Destillate keine Alkohole der Fettreihe. Als ich ein Destillat, herrührend von 150 g zersetzten Eiweisses, mit Soda neutralisirt und mit Aether ausgeschüttelt habe, hinterliess der bei gelinder Wärme abdestillirte Aether einen geringen flüssigen Rückstand, der keines von den aromatischen flüchtigen Producten enthielt, aus welchem aber nach Zusatz von Pottasche einige Cubikcentimeter einer leicht beweglichen, obenauf schwimmenden Flüssigkeit sich abschieden, die sowohl durch den Siedepunkt, als auch durch die Dampfdichte als Aethylalkohol sich auswiesen. Ich hielt mit Rücksicht auf die kürzlich publicirten Versuche von Vitali[1]) den erhaltenen Alkohol für ein Spaltungsproduct aus dem Eiweiss, überzeugte mich aber bald, dass dies ein Irrthum war, indem der zur Extraction verwendete Aether Alkohol enthielt, und als ich bei Wiederholung des Versuches ein Destillat von vergährtem Eiweiss durch Rauschbrandbacillen statt mit Aether mit vollständig alkoholfreiem Schwefelkohlenstoff extrahirte, fehlte der Alkohol gänzlich.

Nachdem zur Entfernung der flüchtigen Producte der Retorteninhalt auf etwa ein Drittel des ursprünglichen Volumens abdestillirt war, wurde er noch heiss filtrirt und auf flachen Schalen auf dem Wasserbade bis zum starken Syrup und beginnender Krystallisation der Oxalsäure eingedampft. Ausser der Oxalsäure scheiden sich hier beim Erkalten noch die oxalsauren Alkalien und etwas Leucin ab. Die syrupöse Masse wird dann in Flaschen gebracht und mit Aether drei- bis viermal ausgeschüttelt. Der in Aether unlösliche Rückstand enthält ausser den genannten Stoffen noch Peptone und basische Producte an Oxalsäure gebunden. Aus dem ätherischen Auszug scheidet sich nach Abdestilliren des Aethers und Zusatz von Wasser eine

---

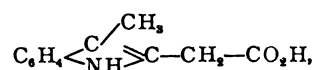
sphärischen Sauerstoff, gleichgültig ob vorwiegend in stickstofffreien oder stickstoffhaltigen Nährmedien. Viele Spaltpilze haben die Fähigkeit, sowohl Kohlehydrate und sonstige stickstofffreie, als auch Eiweiss- und andere stickstoffhaltige Substanzen bei Luftausschluss zu zersetzen. Der Name Fäulniss, worunter im gewöhnlichen Leben Zersetzung organischer Substanzen unter Bildung übelriechender Producte verstanden wird, sollte aus der Terminologie der Gährungschemie ganz verschwinden. Ob etwas angenehm oder schlecht riecht, ist für das Wesen der Gährungen nebensächlich. Die sogenannten Gährungen durch Oxydation, wie z. B. die Bildung der Essigsäure aus Alkohol durch Spaltpilze, sind daher sensu strictiori keine Gährungen mehr. Die Zersetzungen organischer Substanzen durch Pilze mittelst atmosphärischen Sauerstoffes würde man passend mit dem Worte „Verwesung“ bezeichnen.

[1]) Maly's Jahresb. **17**, 4.

schwere, darin untersinkende gelbliche Flüssigkeit aus, welche ausser geringen Mengen flüchtiger Fettsäuren die drei folgenden aromatischen Säuren enthält: 1. die Phenylpropionsäure, 2. die Paraoxyphenylpropionsäure (Hydroparacumarsäure) und 3. die Skatolessigsäure. Es sind diese drei Säuren allein, welche aus dem vergährten Eiweiss in den Aether übergehen. Bei vielfacher Wiederholung dieser Versuche, wobei mehr als 100 Liter der Eiweisslösung verarbeitet wurden, habe ich stets nur diese drei Säuren erhalten. Ihre Menge ist je nach der Dauer, sowie der angewendeten Pilzart verschieden. Die grösste Menge der Skatolessigsäure wird nach drei- bis vierwöchentlicher Gährung des Eiweisses mit Rauschbrandbacillen erhalten. Bei Anwendung des B. liquefaciens magnus oder spinosus war ihre Menge stets geringer. Nach achttägiger Digestion von Eiweiss mit B. liquefaciens magnus in Stickstoffatmosphäre erhielt ich z. B. aus 150 g Eiweiss 0.6 g analytisch reine Phenylpropionsäure, 0.34 g eben solche Paraoxyphenylpropionsäure und keine Skatolessigsäure. Sie entsteht hier erst nach zwei bis drei Wochen. Die Trennung und Reindarstellung dieser drei Säuren ist ziemlich schwierig und mit Verlusten verbunden. Am zweckmässigsten erwies sich folgendes Verfahren:

Die Aetherauszüge von $^1/_2$ bis 1 kg zersetzten Eiweisses werden mit überhitztem Dampf destillirt, so lange bis das Destillat noch sauer reagirt. Es verflüchtigen sich hier die Fettsäuren und die Phenylpropionsäure, während die Hydroparacumarsäure und die Skatolessigsäure als öliger Rückstand hinterbleiben. Dieser Rückstand wird in heissem Wasser gelöst und filtrirt. Das warme Filtrat wird beim Erkalten trüb, indem sich zunächst ein Harz ausscheidet, wovon abfiltrirt wird und nöthigenfalls diese Operation mehrmals wiederholt, bis das Filtrat beim Erkalten klar bleibt. Man kühlt jetzt in Eiswasser ab, worauf sich nach einigen Stunden die Skatolessigsäure in Prismen oder unregelmässig gezackten sechsseitigen Tafeln, die dem salpetersauren Harnstoff ähnlich sind, ausscheidet. Beim Einengen der Mutterlauge scheidet sich noch mehr davon ab, während die letzte Krystallisation aus der im Wasser leicht löslichen Hydroparacumarsäure besteht.

Die Skatolessigsäure:

$$C_6H_4 < \begin{matrix} C \diagup CH_3 \\ NH \end{matrix} \gg C - CH_2 - CO_2H,$$

die bisher weder synthetisch, noch als Spaltungsproduct des Eiweisses dargestellt worden ist, ist in kaltem Wasser wenig löslich, viel leichter in heissem, wie überhaupt ihre Löslichkeit in Wasser eine grössere ist, als wie die der Skatolcarbonsäure, von welcher letzteren mir Herr Professor Salkowski ein Muster zum Vergleich freundlichst übersandte. In Alkohol und Aether ist sie sehr leicht löslich, ebenso in verdünnter Essigsäure. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 134° (uncorrigirt). Als eine grössere Partie im Reagensröhrchen auf 200° erhitzt wurde, blieb die Substanz unverändert. Sie erstarrte beim Erkalten krystallinisch und konnte durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser rein erhalten werden; allerdings enthielt die Lösung offenbar auch Spuren von Skatol, da nach Zusatz von Salzsäure und Pikrinsäure sich einige rothe Kryställchen der Skatol-Pikrinsäureverbindung absetzten. Erst als die Säure zum Sieden erhitzt wurde, bräunte sie sich und es trat

deutlich der Geruch nach Skatol auf, das durch Ausziehen der Masse mit heissem Wasser und Fällen mit Pikrinsäure leicht nachweisbar war.

Das aus heissem Wasser noch einmal umkrystallisirte und über SO_4H_2 getrocknete Präparat ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2133 g gaben 0.5475 g CO_2 und 0.117 g H_2O oder 70.00 Proc. C und 6.09 Proc. H.

0.2021 g gaben im Zulkowski'schen Apparate 13.8 ccm N-Gas bei 15.8° und 700 mm Bst. = 7.34 Proc. N.

0.2019 g von einer anderen Darstellung herrührend, gaben 0.5200 g CO_2 und 0.1068 g H_2O oder 69.74 Proc. C und 5.87 Proc. H.

0.1627 gaben 10.8 ccm N-Gas bei 17° und 717 mm Bst. = 7.27 Proc. N.

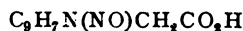
	Versuch:			Die Formel $C_{11}H_{11}NO_2$ verlangt:
C	70.00 und 69.74 Proc.		C	69.84 Proc.
H	6.09 „ 5.87 „		H	5.87 „
N	7.34 „ 7.27 „		N	7.40 „

Als die empfindlichste Reaction auf Skatolcarbonsäure beschreibt Salkowski die folgende[1]): Man versetzt eine Lösung von 1 : 10000 mit einigen Tropfen Salzsäure, dann mit zwei bis drei Tropfen einer ganz dünnen Eisenchloridlösung und erhitzt. Es färbt sich dann die Mischung noch vor dem Sieden intensiv violett. Lösungen von 1 : 100000 zeigten die Reaction noch sehr ausgeprägt und unverkennbar, nur muss der Eisenchloridzusatz noch geringer gewählt werden. Macht man die Reaction mit stärkeren Lösungen (1 : 1000), so tritt eine intensive Kirschfarbe auf; der Salzsäurezusatz muss hierbei etwas grösser gewählt werden, ebenso der Zusatz von Eisenchlorid.

Eine wässerige Lösung der Skatolessigsäure giebt mit Eisenchlorid eine weissliche Trübung. Beim Erwärmen wird die Trübung ziegelroth, und beim Erkalten bildet sich ein ziegelrother Niederschlag. Werden concentrirtere Lösungen angewendet, so färbt sich die Lösung feuerroth bis kirschroth.

Ein viel besseres Reagens auf die Skatolessigsäure, das mir zu ihrer Auffindung sehr nützlich war und auch zur quantitativen Bestimmung derselben benutzt werden kann, ist das salpetrigsaure Kali. Versetzt man eine Lösung, die Skatolessigsäure enthält, mit einer concentrirten Lösung von salpetrigsaurem Kali und säuert mit etwas Essigsäure an, so bildet sich in wenigen Augenblicken ein Magma von feinen gelben Krystallnadeln der Nitrosoverbindung. Ich habe diese Reaction zuerst gelegentlich einer Untersuchung, die Herr Dr. Kerry aus Wien in meinem Laboratorium über die Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems angefangen hat, und die er in Wien weiter fortsetzen wollte, aufgefunden. Die Nitrososkatolessigsäure ist in Wasser unlöslich. Aus reiner Skatolessigsäure wird sie am zweckmässigsten so dargestellt, dass die letztere in essigsäurehaltigem Wasser gelöst und unter Kühlung in Eiswasser mit einer Lösung von salpetrigsaurem Kali im Ueberschusse unter Umrühren versetzt wird. Der sofort entstandene Krystallbrei wird auf dem Filter sorgfältig ausgewaschen und zunächst auf Fliesspapier, so-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**, 25.

dann über SO_4H_2 getrocknet. Die Verbrennungen, namentlich die Stickstoffbestimmung, da der Körper beim Erhitzen verpufft, müssen vorsichtig ausgeführt werden. Gegen Ende, um den letzten Rest des Stickstoffs auszutreiben, ist es nothwendig, stark zu glühen. Die erhaltenen Zahlen stimmen mit der Formel

$$C_9H_7N(NO)CH_2CO_2H$$

überein.

0.2087 g gaben 24.2 ccm N-Gas bei 16° und 706 mm Bst. oder 12.51 Proc. N.

0.2156 g gaben 0.4804 g CO_2 und 0.0972 g H_2O = 60.75 Proc. C und 5.00 Proc. H.

0.2343 g gaben 0.5208 g CO_2 und 0.1012 g H_2O = 60.61 Proc. C und 4.79 Proc. H.

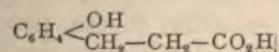
	Versuch:			Die Formel $C_9H_7N(NO)CH_2CO_2H$ verlangt:
C	60.75 und 60.61 Proc.		C	60.55 Proc.
H	5.00 „ 4.79 „		H	4.59 „
N	12.51		N	12.84 „

Die Nitrososkatolessigsäure ist leicht zersetzbar, weshalb sie auch aus Alkohol, worin sie leicht löslich ist, nicht umkrystallisirt werden konnte. In Aether ist sie ebenfalls leicht löslich, weniger in Ligroin. Von Alkalien wird sie leicht gelöst und daraus durch Salzsäure gefällt. Allem Anscheine nach findet auch hierbei eine partielle Zersetzung statt. Im Capillarröhrchen schmilzt sie bei 135° unter Gasentwickelung. In Phenol gelöst giebt sie nach Zusatz von Schwefelsäure und gelindem Erwärmen einen braunrothen Farbstoff, der sich in Alkalien mit schön blauer Farbe löst, ein Beweis, dass der Körper wirklich eine Nitroso- und nicht Isonitrosoverbindung ist. Auch die Skatolcarbonsäure giebt mit Essigsäure und salpetrigsaurem Kalium eine in haarfeinen gelben Nadeln krystallisirende Nitrosoverbindung, die sich nur etwas langsamer, als die Nitrososkatolessigsäure ausscheidet. Ich habe den Körper nicht analysirt und constatirte nur, dass er ebenfalls die Liebermann'sche Reaction giebt.

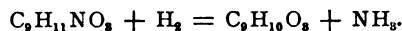
Um die Phenylpropionsäure von den flüchtigen Fettsäuren zu trennen, werden die mit Wasserdämpfen übergegangenen Säuren mit Soda neutralisirt, zur Trockne verdunstet und mit verdünnter Schwefelsäure (im Verhältniss von 1 : 2) angesäuert und mit Aether extrahirt. Zur Reindarstellung der Phenylpropionsäure habe ich mich hier wie schon früher des schön krystallisirenden, in verdünntem Alkohol schwer löslichen Zinksalzes bedient. Der nach Abdestilliren des Aethers hinterbliebene Rückstand wurde mit etwa dem zehnfachen Volumen Wasser versetzt und in einer Schale auf dem Wasserbade so lange Alkohol zugesetzt, bis die anfänglich ölig abgeschiedene Säure wieder in Lösung geht. Man setzt jetzt Zinkoxydhydrat im Ueberschusse zu, erhitzt zum Kochen und filtrirt heiss. Das beim Erkalten auskrystallisirte Salz wird aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Das Salz enthält Krystallwasser, das es aber vollständig beim Trocknen im Exsiccator über SO_4H_2 verliert. Ein so aus einer Rauschbrandcultur erhaltenes Zinksalz ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2632 g des Salzes im offenen Rohre verbrannt gaben 0.574 g CO_2, 0.1206 g

0.058 g ZnO oder 59.4 Proc. C, 5.09 Proc. H und 17.68 Proc. Zn. Die
$C_9H_9O_2)_2$ Zn verlangt: 59.5 Proc. C, 4.96 Proc. H und 17.4 Proc. Zn.
aus einer Cultur von B. liquefaciens magnus aus dem Zinksalze abgeschiedene
re — Schmelzpunkt 47.5° — ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:
4 g gaben 0.5399 g CO_2 und 0.1267 g H_2O = 72.17 Proc. C und 6.90 Proc. H.
aus der Cultur von B. spinosus ebenso erhaltene Säure — Schmelzpunkt
rgab folgende Zahlen:
87 g gaben 0.6304 g CO_2 und 0.1510 g H_2O oder 72.02 Proc. C und
H. Die Formel der Phenylpropionsäure = $C_9H_{10}O_2$ verlangt 72.0 Proc. C
Proc. H.
Phenylpropionsäure bildet den Hauptbestandtheil der in Aetherextract über-
aromatischen Säuren. Ich muss jedoch genaue quantitative Angaben
einer späteren Untersuchung vorbehalten. Anfangs suchte ich die aroma-
Säuren statt sie durch Destillation im Dampfstrome zu trennen, durch
te Krystallisation der Zinksalze zu isoliren. Es gelingt dies mit der Phenyl-
iure und Hydroparacumarsäure. Das Zinksalz der Skatolessigsäure ist in
em Alkohol leichter löslich, als das der Phenylpropionsäure. Eine voll-
Trennung der beiden Säuren ist aber auf diesem Wege nicht möglich. Es
rohl als erste Krystallisation reines phenylpropionsaures Zink zu erhalten,
ren Krystallisationen aber bestehen stets aus einem Gemenge der beiden
wechselnden Verhältniss. Vortheilhafter ist es aber, auf diese Weise die
acumarsäure zu isoliren. Die durch Zersetzen der Zinksalze abgeschiedenen
uren werden abfiltrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade concentrirt. Aus
eengten Lauge krystallisirt die Hydroparacumarsäure leicht aus und es
ır eines einmaligen Umkrystallisirens, um sie rein zu erhalten. Beim
ı im Dampfstrome hinterbleibt als nicht flüchtig neben der Skatolessigsäure
Hydroparacumarsäure. Sie ist aber durch das lange Erhitzen zum Theil
und nur schwer oder gar nicht zum Krystallisiren zu bringen. Ein auf
eise aus Rauschbrandcultur erhaltenes Präparat ergab bei der Verbrennung
Zahlen:
41 g der Substanz gaben 0.6293 g CO_2 und 0.145 g H_2O oder 64.98 Proc. C
roc. H. Die Formel

$$C_6H_4<{OH \atop CH_2-CH_2-CO_2H}$$

65.06 Proc. C und 6.02 Proc. H.
Schmelzpunkt des analysirten Präparates lag bei 125°.
gleiche Weise habe ich auch aus den Culturen des B. liquefaciens magnus
pinosus die Paraoxyphenylpropionsäure in reinem Zustande dargestellt, doch
ich mich hier mit der Schmelzpunktsbestimmung und der Reaction mit dem
schen Reagens. Die Gegenwart der Oxyphenylpropionsäure war übrigens
h die Rothfärbung mit salpetrigsaurem Kali stets zu erkennen. Während
ylpropionsäure mit diesem Reagens keinen Niederschlag oder Färbung giebt,
lsäuren in ihre krystallinische, rein gelbe, in Wasser unlösliche Nitrosover-
verwandelt werden, sind es nur die Oxysäuren, welche sich damit roth

färben. Hervorheben will ich, dass, ausser den drei genannten Säuren, ich weder die Phenylessigsäure, noch die Benzoësäure und die resp. hydroxylirten Säuren in dem Aetherextracte auffinden konnte, obgleich ich besonders darauf geachtet habe. Diese Thatsache ist sowohl für die Kenntniss der anaërobiotischen Gährung, als wie auch des Eiweissmoleküls von hohem Interesse. Alle Forscher, die sich in den letzten Jahren mit der Eiweisschemie beschäftigt haben, sind darüber einig, dass ausser der hydroxylirten Phenylamidopropionsäure — dem Tyrosin — in dem Eiweissmolekül noch die Phenylamidopropionsäure enthalten sei. So äussert sich z. B. E. Schulze[1]), welcher zuerst die Phenylamidopropionsäure unter den Producten der Eiweisszersetzung aufgefunden hat, „es sei höchst unwahrscheinlich, dass diese Säure sich aus dem Tyrosin gebildet habe, man wird vielmehr anzunehmen haben, dass sie aus einer im Eiweissmolekül vorhandenen Atomgruppe hervorgegangen ist". Auch Salkowski, l. c. S. 510, acceptirt die Anschauung, dass im Eiweiss präformirte Phenylamidosäure einen grösseren Antheil an den durch Spaltung entstehenden flüchtigen aromatischen Säuren habe, als das Tyrosin. Auf Grund der mitgetheilten Resultate bin ich in Uebereinstimmung mit Salkowski (vergl. dessen „Lehre vom Harn", S. 26) der Ansicht, dass in dem Eiweissmolekül nicht zwei, sondern drei aromatische Gruppen, und zwar das Tyrosin, die Phenylamidopropionsäure und die Skatolamidoessigsäure präformirt sind. Bei der anaërobiotischen Gährung des Eiweisses, wo die Oxydation durch den atmosphärischen Sauerstoff ausgeschlossen ist, findet nur durch den nascirenden Wasserstoff die Umwandlung der drei im Eiweissmolekül enthaltenen Amidosäuren in Ammoniak und die respective stickstofffreie Säure statt. Baumann fand, dass Tyrosin mit faulendem Pankreas in offenem Gefässe bei Bruttemperatur digerirt, in Ammoniak und Oxyphenylpropionsäure zerfällt. Die Zersetzung erfolgt hier nach der Gleichung:

$$C_9H_{11}NO_3 + H_2 = C_9H_{10}O_3 + NH_3.$$

Unter ähnlichen Verhältnissen wird die Phenylamidopropionsäure von Schulze[3]) in Phenylessigsäure verwandelt[4]). Die Reaction verläuft hier in zwei Phasen, indem durch Wasserstoff zunächst Ammoniak und Phenylpropionsäure entstehen und bei Luftzutritt die letzte zu Phenylessigsäure oxydirt wird. Ist, wie in meinen Versuchen, der Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs ausgeschlossen, dann bleibt die Reaction nur bei der ersten Phase und so erklärt es sich, dass ich nur die drei genannten aromatischen Säuren und keines von ihren weiteren Oxydationsproducten erhalten habe. Sie entstehen erst bei Luftzutritt, und wenn wir annehmen, dass die drei Amidosäuren im Eiweiss präformirt sind, so lässt sich durch Oxydation und Spaltung der daraus hervorgegangenen aromatischen Säuren die ganze Serie der bei der

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**, 88.

[2]) Ber. **12**, 1451.

[3]) Nach den Untersuchungen von E. Schulze und E. Nägeli (Zeitschrift für physiol. Chem. **11**, 201) ist die aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen erhaltene Amidosäure eine optisch active Modification der Phenylamidopropionsäure von Erlenmeyer und Lipp (Ann. Chem. Pharm. **219**, 194) und kann ebenfalls in Tyrosin verwandelt werden.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**, 282.

Eiweissgährung und Verwesung aufgefundenen Producte auf die einfachste Weise erklären.

So entstehen aus der Phenylamidopropionsäure:

1. $C_6H_5.CH_2.CH(NH_2).CO_2H + H_2 = C_6H_5CH_2.CH_2.CO_2H + NH_3$
Phenylpropionsäure

$C_6H_5CH_2.CH_2.CO_2H + O_2 = C_6H_5CH_2.CO_2H + CO_2 + H_2O$
Phenylpropionsäure — Phenylessigsäure

$C_6H_5CH_2.CO_2H + O_2 = C_6H_5CO_2H + CO_2 + H_2O$
Phenylessigsäure — Benzoësäure

und ausserdem

$C_6H_5.CH_2.CH(NH_2).CO_2H = C_6H_5CH_2.CH_2.NH_2 + CO_2$
Phenylamidopropionsäure — Phenyläthylamin

Aus dem Tyrosin:

2. $C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CH(NH_2).CO_2H} + H_2 = C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CH_2.CO_2H} + NH_3$
Paraoxyphenylpropionsäure

$C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CH_2CO_2H} + O_2 = C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CO_2H} + CO_2 + H_2O$
Paraoxyphenylpropionsäure — Paraoxyphenylessigsäure

$C_6H_4<^{OH}_{CH_2.CO_2H} = C_6H_4<^{OH}_{CH_3} + CO_2$
Paraoxyphenylessigsäure — Parakresol

$C_6H_4<^{OH}_{CH_3} + O_2 = C_6H_4<^{OH}_{CO_2H} + CO_2 + H_2O$
Parakresol — Paraoxybenzoësäure

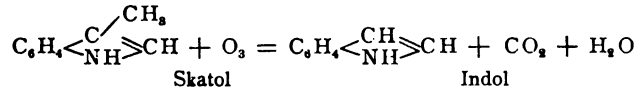
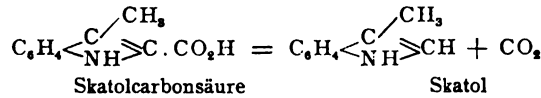
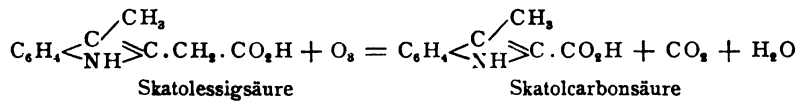
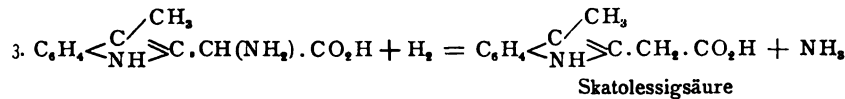
$C_6H_4<^{OH}_{CO_2H} = C_6H_5.OH + CO_2$
Paraoxybenzoësäure — Phenol

und aus der Skatolamidoessigsäure:

3. $C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg C.CH(NH_2).CO_2H + H_2 = C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg C.CH_2.CO_2H + NH_3$
Skatolessigsäure

$C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg C.CH_2.CO_2H + O_2 = C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg C.CO_2H + CO_2 + H_2O$
Skatolessigsäure — Skatolcarbonsäure

$C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg C.CO_2H = C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg CH + CO_2$
Skatolcarbonsäure — Skatol

$C_6H_4<^{C(CH_3)}_{NH}\gg CH + O_3 = C_6H_4<^{CH}_{NH}\gg CH + CO_2 + H_2O$
Skatol — Indol

Selbstverständlich will ich nicht behaupten, dass die Zersetzung der drei aromatischen Amidosäuren successive nach dem hier aufgestellten Schema verläuft. In vielen Fällen dürften aus den Amidosäuren die Endproducte, wie z. B. Phenol oder Indol, sofort entstehen. Es hängt dies von der Temperatur, Luftzutritt und vor Allem von den an der Zersetzung des Eiweisses betheiligten Spaltpilzen ab. Wie

nitrat weissen Niederschlag, Bleiacetat und Kupfersulfat einen gelbbraunen. Es brachte uns dies auf die Vermuthung, dass das Gas auch mit Metallen Verbindungen eingehe, und der widrige Geruch von einem mercaptanartigen Körper herrühre[1]. Es zeigte sich in der That, dass, wenn wir die bei der Gährung entwickelten Gase in eine Lösung von Sublimat oder Bleiacetat leiteten, der unangenehme Geruch fast völlig verschwand, wobei das Metall durch das Gas gefällt wurde. Der Niederschlag bestand zum grössten Theil aus Schwefelblei, resp. aus dem Doppelsalze $HgS + HgCl_2$. Doch war stets dabei auch die übelriechende, schwefelhaltige Substanz vorhanden. Es war uns klar, dass es sich um einen sehr flüchtigen, mercaptanartigen Körper handelt, und das Nächstliegende war, an Methylmercaptan zu denken. Bei der Durchsicht der auf diesen Körper bezüglichen Literatur fanden wir dann die vor Kurzem publicirte schöne Untersuchung von Peter Klason: Ueber Darstellung von Sulfhydraten und Sulfiden des Methans und Aethans[2]. Wir gestehen es offen, es wäre uns kaum möglich, ohne die Kenntniss der Arbeit Klason's das Methylmercaptan als Product der Eiweissgährung nachzuweisen und rein darzustellen. Seit nämlich Dumas und Peligot[3] das Methylmercaptan durch Einwirkung von Kaliumsulfhydrat auf den neutralen Schwefelsäuremethylester erhalten haben, wird von allen späteren Autoren das Methylmercaptan als eine leichte, in Wasser nur wenig lösliche, und bei 21° siedende Flüssigkeit beschrieben. Erst Klason zeigte, dass die Präparate von Gregory sowie Obermayer nur ein mit Methylsulfhydrat verunreinigtes Methylsulfid waren. Reines, nach seiner Vorschrift dargestelltes Methylsulfhydrat siedet schon bei 5.8° bei 752 mm Bst., und ist somit bei gewöhnlicher Temperatur ein Gas, das in condensirtem Zustande „eine farblose, dünnflüssige und ziemlich stark lichtbrechende Flüssigkeit von sehr abscheulichem, faulem Weisskohl sehr ähnlichem Geruche darstellt". Schon sehr geringe Mengen Methylsulfid erhöhen den Siedepunkt des Mercaptans beträchtlich. Wir haben nun versucht, durch Auffangen der bei der Gährung des Serumeiweisses durch verschiedene Mikroben entwickelten Gase in einer Lösung von Quecksilbercyanid, wobei das Methylmercaptan in Form mikroskopischer viereckiger Prismen von der Zusammensetzung $(CH_3S)_2Hg$ ausfällt, dieses Körpers habhaft zu werden. Es gelang uns jedoch nicht, aus den entstandenen Niederschlägen, die vorwiegend aus Schwefelquecksilber bestanden, das Methylmercaptan zu isoliren. Aus den Culturen des B. liquefaciens magnus, der relativ die grösste Menge des Gases zu bilden scheint, und von dem schon sein Entdecker Dr. Lüderitz[4] sagt, dass er in der Nährlösung ein Gas ent-

[1] Nach E. Fischer und F. Penzoldt werden vom menschlichen Geruchssinne als Minimum noch $\frac{1}{460\,000\,000}$ mg Mercaptan wahrgenommen. Die bisher als empfindlichst geltende Methode, kleine Substanzmengen wahrzunehmen, die Spectralanalyse, wird also von unserem Geruchsorgane übertroffen; spectralanalytisch kann nämlich nur noch $\frac{1}{1\,400\,000}$ mg Natrium nachgewiesen werden, während obige Mercaptanmenge mehr als 300 Mal kleiner ist. (Vergl. Maly's Jahresb. f. 1886, S. 324.)

[2] Ber., **20**, 3407.

[3] Ann. chim. phys. (2) **58**, 32.

[4] Zeitschr. f. Hygiene. **5**, 147 (1888).

ckelt von sehr unangenehmem, an alten Käse und Zwiebeln erinnerndem Geruch, lang es uns, durch Erwärmen des Quecksilberniederschlages mit Salzsäure ein Gas entwickeln, das den charakteristischen Geruch des Methylmercaptans besass, und eine Lösung von Cyanquecksilber geleitet, einen weissen krystallinischen Niederhlag erzeugte, jedoch in so geringer Menge, dass er eben nur hinreichte, um darin e Gegenwart von Schwefel zu constatiren. Zu sicherem Ergebniss hat uns dagegen n Gährungsversuch, wo statt Serumeiweiss gekochtes Ochsenfleisch angewendet urde, geführt.

Den Aerzten und pathologischen Anatomen ist die krankhafte Veränderung ekannt, bei welcher in der Schleimhaut des Magens, des Darms, der Harnblase und er Vagina sich Luftcysten bilden, welche die Mucosa in die Höhe treiben, so dass e mit Gasblasen bedeckt erscheint. Prof. Klebs in Zürich fand, dass im nnern dieser Luftcysten Mikroorganismen vorkommen, und schloss, dass zwischen eiden wohl ein ursächlicher Zusammenhang bestehen möge. Auf seine Anregung hin wurden dann von W. Eisenlohr[1]) die pathologischen Veränderungen der Gewebe, sowie der sie bewirkenden Mikrobe und seine Lebensbedingungen studirt. Im verflossenen Winter sind hier drei Fälle von Magen- und Darmemphysem zur Section gekommen und Herr Prof. Langhans hatte die Freundlichkeit, uns die frischen Präparate behufs bacteriologischer Untersuchung zu übergeben. Wir haben daraus den gleichen Mikroben, wie ihn Eisenlohr beschreibt, isolirt. Es sind dies Kurzstäbchen, 1 μ lang, von ovaler Gestalt, so dass der Längsdurchmesser den Querdurchmesser nur um ein Geringes übertrifft. Charakteristisch für ihr Wachsthum ist die Bildung von zahlreichen, manchmal grossen Gasblasen in der Nährgelatine und Nähragar. Die Zersetzung des Eiweisses und der Kohlehydrate durch Emphysembacterien soll später beschrieben werden.

600 g kleingehacktes Fleisch und 3 Liter Wasser wurden steril gemacht, dann mit diesen Bacterien geimpft, die Luft durch Kohlensäure ausgetrieben und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Die Gährung war hier ziemlich träge und nur von schwacher Gasentwickelung begleitet. Nach 45 Tagen wurde der Kolbeninhalt aus einer tubulirten Retorte mit 20 g Oxalsäure destillirt. Das andere Ende des Kühlers wurde mittelst eines gut schliessenden Korkes mit einem Kölbchen verbunden, das dazu diente, die Wasserdämpfe und die flüchtigen Fettsäuren zurückzuhalten. Die bei der Destillation entweichenden Gase passirten aus dem Kölbchen zwei mit 3 proc. Cyanquecksilberlösung gefüllte Kugelapparate, wodurch ausser Schwefelwasserstoff auch Methylmercaptan absorbirt werden musste. Von Zeit zu Zeit, um Verstopfung durch den entstandenen Niederschlag zu verhüten und der völligen Absorption sicher zu sein, wurden die Kugelapparate gewechselt. Ist das vorgelegte Kölbchen zu etwa ein Viertel mit dem Destillate gefüllt, so geht kein Gas mehr über. Der in den Kugelapparaten entstandene Niederschlag wird jetzt auf ein Filter gebracht und sorgfältig ausgewaschen. Er ist zum grössten Theil amorph, und bei mikroskopischer Durchmusterung sieht man nur hier und da undeutliche krystallinische Blättchen.

[1]) Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie, redigirt von Ziegler und Nauwerck. **3**, 103 (1888).

Der Niederschlag ist von grünlichgelber Farbe, welche Färbung an die Stühle nach Gebrauch von Quecksilberpräparaten erinnert. Wir haben ihn noch feucht in einem Kölbchen mit etwas Wasser zu einem Brei angerührt, mit Salzsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt, und das entweichende Gas in eine 10 proc. Lösung von Bleiacetat geleitet. Es entstand jetzt in der Bleilösung ein gelber krystallinischer Niederschlag, der unter dem Mikroskope aus schönen, ganz homogenen Tafeln und Prismen bestand, ganz gleich im Aussehen dem Bleisalze, das wir zum Vergleich aus reinem Methylmercaptan dargestellt haben. Die abfiltrirten und gut ausgewaschenen Krystalle wurden an der Luft getrocknet. Ihre Menge betrug etwas über ein Decigramm. Eine Bleibestimmung darin ergab uns folgende Zahlen: 0.142 g der Substanz gaben 0.1425 g SO_4Pb oder 68.53 Proc. Pb. Die Formel $(CH_3S)_2Pb$ verlangt 68.76 Proc. Pb. Seither haben wir bei allen von uns untersuchten Gährungen des Eiweisses und des Leims durch die verschiedensten Mikroben Methylmercaptan in wechselnden Mengen erhalten und jetzt, wo die Methode der Reindarstellung gefunden ist, wird es leicht sein, grössere Quantitäten des Bleisalzes aus vergährten Eiweisslösungen darzustellen. Ebenso ist es ziemlich sicher, dass das Methylmercaptan ein constanter Bestandtheil der Dickdarmgase ist, und es wird von Interesse sein, die physiologische Wirkung dieses Gases zu untersuchen. Allem Anscheine nach werden die höheren Homologen des Methylsulfhydrates auch von Thieren gebildet. Das dem Iltis nahe verwandte Stinkthier, das in mehreren Arten in Amerika, Ostindien und Afrika vorkommt, ist durch die Analdrüsen, welche in den Mastdarm münden und ein gelbes, stinkendes Oel enthalten, ausgezeichnet. Dr. O. Loew[1] in München hatte bei seinen Reisen in dem nordwestlichen Texas im Jahre 187[illegible] Gelegenheit, dieses Oel von Mephitis texana zu untersuchen. Er sagt hierüber Folgendes: „Ich hätte mir leicht eine zur Feststellung der chemischen Constitution hinreichende Menge jener interessanten Schwefelverbindung verschaffen können, wenn meine sämmtlichen Reisegefährten nicht energisch dagegen protestirt hätten; denn der an mir haftende Geruch war unerträglich. Mit der gesammelten Menge konnte ich nur qualitativ einige Versuche machen. Das Oel scheint aus wenigstens zwei Körpern zu bestehen, wovon der eine, schwefelreichere, sich dem Knoblauchöl ähnlich verhält, mit Metallsalzen Niederschläge giebt, und von Salpetersäure heftig angegriffen wird, der andere aber stickstoffhaltig ist, und eine nach Trimethylamin riechende Basis abspaltet." Schon im Jahre 1863 wurden von Swarts[2]) im Wöhler'schen Laboratorium einige Versuche mit dem Oel angestellt. Swarts beobachtete ebenfalls die Entstehung einer Base, und schied das Oel in zwei Theile, einen, der bei 105 bis 110° siedete, einen anderen bei 190 bis 200°. Möglicherweise handelt es sich auch hier um Methylmercaptan und dessen Homologe.

[1]) Aerztliches Intelligenzblatt von München. Mai 1879.

[2]) Jahresb. f. Chemie. Jahrg. 1863.

Das Methylmercaptan als Bestandtheil der menschlichen Darmgase

von

L. Nencki.

Monatsh. f. Chem. 10, 862.

In dem letzten Hefte der Monatsh. f. Chemie[1]) findet sich die Mittheilung von M. Nencki und N. Sieber in Bern, dass bei der Gährung des Eiweisses oder des Leims unter den gasförmig auftretenden Producten sich constant Methylmercaptan vorfindet. Diese Beobachtung, die mir übrigens schon früher brieflich durch meinen Bruder mitgetheilt worden ist, veranlasste mich, auch den menschlichen Darminhalt daraufhin zu untersuchen, da, wie bekannt, ein Theil des Speisebreies in unserem Darmcanal, namentlich im Dickdarm, durch die Mikroben zersetzt wird.

Aus den früheren Arbeiten über die Darmgase von Planer und Ruge wissen wir, dass dieselben aus Kohlensäure, Wasserstoff, Grubengas und Schwefelwasserstoff bestehen. Von vornherein war anzunehmen, dass auch der grösste Theil des im Darm entstehenden Methylmercaptans gasförmig entweicht, und nur ein geringer Theil in dem Darminhalt gelöst sich vorfinden wird. Da es sich zunächst überhaupt um Nachweis des Methylmercaptans im Darminhalt handelte, und ich augenblicklich nicht im Besitze der Apparate zum Aufsammeln der Darmgase war, so habe ich mich auf die Untersuchung der menschlichen Excremente beschränkt, die ich mir von den Patienten des hiesigen Spitals zum heiligen Geist leicht verschaffen konnte. Frisch gelassene Excremente wurden mit Wasser zu einem dünnen Brei angerührt und aus tubulirten Retorten unter Zusatz von Oxalsäure (auf je 0.5 kg 15 g Oxalsäure), genau in der gleichen Weise, wie dies in der Mittheilung meines Bruders beschrieben ist, destillirt. Die entweichenden Gase passirten zunächst ein Kölbchen, wo die Wasserdämpfe zurückgehalten wurden, und darauf eine 3 proc. Cyanquecksilberlösung. Die Hauptmenge des anfänglich entweichenden Gases war Kohlensäure, und erst später entwichen Gase, die in der Quecksilberlösung einen gelblichen, später schwarzen Niederschlag erzeugten. Die Menge dieses Quecksilberniederschlages war jedoch immer nur gering, jedenfalls bedeutend geringer, als aus vergährten Eiweisslösungen, obgleich ich die Destillation stets so lange fortsetzte, bis keine Gase mehr entwichen. Der nach Verarbeitung von 3 kg menschlicher Excremente erhaltene Quecksilberniederschlag wurde abfiltrirt, ausgewaschen, noch feucht mit etwas Wasser und Salzsäure zu einem Brei angerührt und durch Erhitzen in einem kleinen Erlenmeyer'schen Kölbchen zersetzt. Das jetzt entweichende Gas, in einer frisch bereiteten Lösung von neutralem Bleiacetat aufgefangen, erzeugte darin sofort einen gelben krystallinischen Niederschlag, aus mikroskopischen Tafeln und Prismen bestehend. Gleichzeitig nahm die Bleilösung den äusserst charakteristischen Geruch des Methylmercaptans an. Die

[1]) Monatsh. f. Chem. 10, 526. — Vorstehende Abhandlung in diesem Bande.

Menge des erhaltenen Bleisalzes war für eine Analyse zu gering; auch hier bestand der Quecksilberniederschlag vorwiegend aus Schwefelquecksilber. Der charakteristische Geruch, sowie das erhaltene Bleisalz sind jedoch ein genügender Beweis für das Vorhandensein des Methylmercaptans in den menschlichen Excrementen. Wie schon oben erwähnt, habe ich nur minimale Mengen darin erwartet, da die durch die Gährung der Kohlehydrate und des Eiweisses im Dickdarme gebildeten Säuren die etwaigen Alkaliverbindungen des Methylmercaptans zersetzen müssen, und das letztere hauptsächlich gasförmig entweicht. Die nächste Aufgabe wird nun sein, die physiologische Wirkung des Methylmercaptans zu untersuchen, da dieses Gas voraussichtlich dem Organismus gegenüber nicht indifferent sich verhält. Von Interesse würde es ferner sein, die Menge dieses Gases bei den verschiedenen mikrobiotischen Erkrankungen des Darmcanals zu bestimmen.

Ueber die Zersetzung des Leims durch anaërobe Spaltpilze

von

L. Selitrenny.

Monatsh. f. Chem. **10**, 908. — Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **19**, 514.

Diese Untersuchungen bilden die Fortsetzung der Arbeit von Prof. Nencki[1] über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze. 800 g reinster Gelatine des Handels wurden in 16 Litern Wasser gelöst, in zwei Kolben vertheilt und sterilisirt. Die sterilen Lösungen wurden mit Sporen des B. liquefaciens magnus inficirt, die Luft aus den Kolben durch Kohlensäure verdrängt und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Schon am dritten Tage stellte sich Gährung ein; der Inhalt des ersten Kolbens wurde am 22. Tage, der des zweiten Kolbens am 32. Tage in folgender Weise verarbeitet. Die trübe, nach Methylmercaptan riechende Lösung wurde in mehreren Retorten mit krystallisirter Oxalsäure (15 g auf 1 Liter) destillirt und die zuerst auftretenden Gase durch eine Cyanquecksilberlösung zur Absorption des Methylmercaptans geleitet. Das aus dem Quecksilberniederschlage erhaltene Bleisalz enthielt 68.97 Proc. Pb, während die Formel $(CH_3S)_2Pb$ 68.7 Proc. verlangt. In dem Destillate, das die flüchtigen Fettsäuren enthielt, war weder Indol, noch Skatol oder Phenol nachweisbar. Genau das gleiche Verhalten zeigte die zweite Portion, nur war die Menge des Mercaptans noch geringer. Der Retorteninhalt wurde zum Syrup verdampft, mehrfach mit Aether ausgeschüttelt, der Aether abdestillirt, wobei ein in Wasser untersinkendes Oel erhalten wurde. Eine Probe desselben gab mit Nitrit keine Nitrosoverbindung, doch zeigte die Millon'sche Reaction deutliche Rothfärbung. Dasselbe wurde im Dampfstrome destillirt und aus dem Destillate das Zinksalz

---

[1]) Dieser Band S. 101.

rgestellt, welches durch die Analyse als phenylpropionsaures Zink erkannt urde. Auch der nicht verflüchtigte Antheil lieferte dasselbe Zinksalz und scheint die illon'sche Reaction nur auf Spuren einer aromatischen Oxyverbindung zu beruhen, elche wohl auf eine geringe Verunreinigung der Gelatine mit Eiweiss zurückıführen ist. Der Retortenrückstand wurde zur Entfernung der Oxalsäure mit Kalkırbonat gekocht und das concentrirte Filtrat mit viel absolutem Alkohol versetzt, odurch ein Krystallbrei sich abschied, der durch Kochen mit Kupfercarbonat in die upferverbindung übergeführt wurde. Letztere erwies sich bei der Analyse als ines Glycocollkupfer. In dem Alkoholfiltrate wurde nur noch Leucin efunden. Ein zweiter Gährungsversuch mit Rauschbrandbacillen, bei welchem aber uft und damit fremde Keime in die Kolben eindrangen, lieferte ebenfalls weder henol noch Indol oder Skatol, im Destillate waren Methylmercaptan und flüchtige ettsäuren enthalten. Der Aetherextract ergab ein Gemenge von phenylpropionaurem und phenylessigsaurem Zink, letztere Säure in vorwiegender Menge entaltend. Das Hauptproduct war in beiden Fällen das zähe, syrupförmige, in Veingeist lösliche, in absolutem Alkohol unlösliche Leimpepton. Nencki und ieber erhielten bei der Oxydation verschiedener Eiweissstoffe mit starker Salpeteräure Paranitrobenzoësäure, die offenbar aus der präformirten Phenylamidopropionäure hervorging. Um zu sehen, ob das Leimpepton noch dieselbe Säure enthalte, urde eine Partie desselben mit Salpetersäure oxydirt und das eingedampfte roduct mit Aether extrahirt, welcher aber nur Bernsteinsäure aufnahm. In inem zweiten Versuche wurde mit Kaliumpermanganat oxydirt und dabei reine enzoësäure (neben etwas Bernsteinsäure) erhalten. Die Menge der Phenylpropioniure beträgt mit dem Verluste etwa 1 Proc. vom Gewichte der angewandten elatine. Da aber nur die Hälfte des Leims in krystalloide Producte verwandelt urde, dürfte ihre Menge im Leim wohl 2 bis 3 Proc. betragen. Da weder Paraγphenylpropionsäure, noch Skatolessigsäure oder deren Derivate erhalten wurden, liegt in dem Mangel der beiden letzteren aromatischen Producte ein wesentlicher iterschied zwischen den eigentlichen Eiweissstoffen und Leim. Ein weiterer terschied liegt in dem Vorwiegen der Amidofettsäuren; so hat Nencki aus Leim r 12 Proc. Glycocoll erhalten[1]), eine Menge, die nie aus eigentlichem Eiweissper erhalten wurde.

[1]) Nencki's Opera omnia 1, 192.

Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems

von

R. Kerry.

Monatsh. f. Chem. **10**, 864. Nach dem Autoreferate abgedruckt. Maly's Jahresber. **20**, 462.

Der Verf. hat Ochsenblutserum mit dem 20-fachen Gewicht Wasser versetzt, nach sorgfältiger fractionirter Sterilisirung mit Reinculturen von den anaëroben Oedembacillen geimpft und die Luft durch CO_2 verdrängt. Die Kolben wurden 10 Tage lang bei 37 bis 40° gehalten, wobei Trübung des Kolbeninhaltes eintrat und stinkende Gase entwickelt wurden, welche das Quecksilber schwärzten. Das Eiweiss wurde fast vollständig zersetzt. Die Flüssigkeit reagirte neutral, wurde daher mit Oxalsäure angesäuert und destillirt. Beim Ansäuern entwich Schwefelwasserstoff und Kohlensäure. Im Destillat fanden sich weder Indol noch Skatol, dagegen die bekannten Fettsäuren und ein bei der Eiweisszersetzung bisher noch nicht bekannt gewordener Körper. Dieser Körper ist ein Oel, das in Aether und Benzol löslich ist, bei 165 bis 171° seinen Siedepunkt hat und leichter als Wasser ist. Es ist in Alkalien und Säuren unlöslich, von höchst unangenehmem Geruche und enthält weder S noch N. Die Bestimmungen der Elementaranalyse und Dampfdichte ergaben die Formel $C_8H_{16}O_4$. Die Reaction mit Fuchsin und schwefliger Säure zeigt eine violette Färbung, ammoniakalische Silberlösung wird reducirt, mit Phenylhydrazin entsteht unter Erwärmen eine Verbindung, mit Diazobenzolsulfonsäure, Natronlauge und Natriumamalgam entsteht rothviolette Färbung. Mit Natriumbisulfit und Fehling'scher Lösung entsteht keine Reaction. Bei der Oxydation mit chromsaurem Kalium entsteht der Hauptmenge nach Valeriansäure. Der Körper ist optisch activ, dreht rechts. Er dürfte den Aldehyden oder Ketonen angehören. Im Destillationsrückstande findet sich Leucin, Hydroparacumarsäure und eine weitere Säure, welche, nach der Nitritreaction zu schliessen, Skatolessigsäure sein dürfte. Basische Producte entstanden in zu geringer Menge, um isolirt werden zu können. Die Gasanalyse ergab ausser CO_2, H_2S, NH_3 hauptsächlich Wasserstoff und Grubengas. Die Menge des ersteren wuchs im Verlaufe der Gährung, die des Grubengases nahm hierbei ab. Freier Stickstoff war nicht sicher nachzuweisen. Der Verf. nimmt an, dass die geringen Mengen, die er fand, in den Grenzen der Versuchsfehler liegen.

Bacteriologisch-chemische Untersuchungen der Tuberkelbacillen

von

A. Hammerschlag.

Monatsh. f. Chem. **10**, 9. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **19**, 519.

Die Tuberkelbacillen lassen sich sehr gut auf Fleischwasseragar oder Bouillon, die mit 5 Proc. Pepton und 5 Proc. Glycerin versetzt sind, ziehen (Nocard und Roux, Annales de l'institut Pasteur 1885). Auch Nährlösungen, die statt des Glycerins Mannit, Traubenzucker oder Glycogen enthalten, geben einen guten Nährboden für die Bacillen ab. Eine sehr bequeme Culturflüssigkeit für diese sowie viele andere Bacterien bildet eine Hefeabkochung, zu deren Bereitung man Bierhefe mit dem 10fachen Volumen Wasser decantirt und den Rückstand mit dem 10- bis 15fachen Volumen Wasser einmal aufkocht und nach dem Erkalten filtrirt. Zur chemischen Untersuchung filtrirt man die Nährlösungen durch Leinwand und wäscht den Rückstand mit essigsaurem Wasser; von den Culturen auf Agar wird der oberflächliche Belag abgehoben und mit Wasser und einigen Tropfen Essigsäure längere Zeit erwärmt und filtrirt. Die frischen Bacterien zeigen eine schwach rosarothe Färbung, einen angenehmen obstartigen Geruch und bilden zähe, schleimige Klümpchen. Es wurden zwei Analysen mit zwei verschiedenen Culturreihen ausgeführt, welche ergaben:

	I.	II.
Wassergehalt	88.7	83.1
In Alkohol und in Aether lösliche Stoffe	28.2	26.2

Die elementare Zusammensetzung des in Alkohol und Aether unlöslichen Theils, aus Eiweiss, Cellulose und Asche bestehend, war: 51.62 Proc. C, 8.07 Proc. H, 9.09 Proc. N; 8.0 Proc. Asche. — Auffallend ist die grosse Menge der in Alkohol und Aether löslichen Stoffe, durch welche sich die Tuberkelbacillen in ihrer chemischen Zusammensetzung von den bisher untersuchten Bacterienarten wesentlich unterscheiden. Während Fäulnissbacterien nach Nencki[1]) 7.3 Proc., Pneumoniecoccen nach Brieger[2]) 1.7 Proc., Milzbrandbacillen 7.1 Proc. (Dyrmond)[3]), Bacillen der multiplen Gangrän 11.0 Proc. (Bovet)[4]) in Alkohol und Aether lösliche Stoffe enthalten, sind hier im Mittel 27 Proc. Der Alkoholextract der ersten Analyse wurde zur Hälfte einem Meerschweinchen injicirt, wodurch Anfangs klonische, später tonische Krämpfe auftraten, die nach 12 Stunden zum Tode führten. In dem Aetherextract des zweiten Versuchs liess sich Lecithin nebst Tripalmitin und Tristearin nachweisen, Oelsäure und Cholesterin fehlten. Auch

[1]) Nencki's Opera omnia **1**, 447.
[2]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. **9**, 7.
[3]) Dieser Band S. 9.
[4]) Dieser Band S. 99.

hier erwiesen sich die alkoholischen Auszüge als giftig für Kaninchen. Der in Alkohol und Aether unlösliche Theil wurde mit 1 proc. Kalilauge behandelt, die Lösung decantirt und daraus durch schwefelsaures Ammon der Eiweisskörper der Bacillen in Form eines flockigen Niederschlages gefällt, welcher die Xanthoproteïn-, Biuret- und Millon'sche Reaction gab. Der unlösliche Rückstand, der noch die Form der Bacillen hatte, aber nicht mehr färbbar war, wurde auf Cellulose untersucht. Dazu wurde ein Theil in concentrirter Schwefelsäure gelöst, die Lösung verdünnt und gekocht, die Flüssigkeit reducirte alkalische Kupferlösung, während Kochen mit Wasser allein keinen reducirenden Körper lieferte. Eine Probe wurde mit chlorsaurem Kali und Salpetersäure behandelt, wobei die Hauptmenge ungelöst blieb. In Kupferoxydammon löste sich die Substanz theilweise auf, in der filtrirten Flüssigkeit erzeugte verdünnte Schwefelsäure eine leichte Trübung. Auf Grund dieser Reactionen kann man behaupten, dass die Grundsubstanz der Tuberkelbacillen Cellulose sei. Setzt man den Stickstoffgehalt des Eiweisses = 16 Proc. und nimmt man an, dass der ganze Stickstoff in Form von Eiweiss enthalten ist, so würden die Tuberkelbacillen bei einem Gehalte von 27 Proc. in Alkohol löslichen Stoffen und 8 Proc. Asche aus 36.9 Proc. Eiweiss und 28.1 Proc. Cellulose bestehen. Die Untersuchung der Stoffwechselproducte der Tuberkelbacillen ergab kein Resultat. Der Geruch der Agar- und Bouillonculturen rührte von einem Alkohol her (Jodoformreaction, Bildung von Aldehyd bei der Oxydation des Destillates, Bildung von Benzoësäureester), der jedoch nicht Aethylalkohol war. Ptomaïne konnten nicht gefunden werden.

Die Prüfung der käuflichen Reagentien zur Elementaranalyse auf ihre Reinheit

von

M. Nencki.

Monatsh. f. Chem. **10**, 233.

Unter dem Titel: „Die Prüfung der chemischen Reagentien auf Reinheit“ [1]) ist vor Kurzem von Dr. C. Krauch, Chemiker in der Fabrik von E. Merck in Darmstadt, ein kleines Büchlein erschienen. In der Einleitung zu seiner Schrift sagt der Verfasser: Der Zweck derselben sei, für die gebräuchlichsten Reagentien Untersuchungsvorschriften zu geben, nach welchen man, bei guter und sorgfältiger Herstellung der Präparate, deren Reinheit garantiren kann. Herr Dr. Krauch bemerkt ferner, dass die Firma E. Merck von jetzt ab die Reinheit der Reagentien, welche sie in den Handel bringt, nach den in seiner Schrift aufgezeichneten Methoden garantiren und so einen „Anfang mit der Beschaffung von Reagentien nach bestimmter Garantie machen wird“.

Es ist nun zu erwarten, dass das lobenswerthe Vorgehen des Hauses E. Merck

[1]) Darmstadt, Verlag von L. Brill. 1888.

auch von anderen Fabriken chemischer Producte nachgeahmt werden wird. Gerade aber die Vorschriften des Dr. Krauch zur Prüfung der wichtigsten Reagentien im Laboratorium, nämlich des für Elementaranalysen verwendeten Kupferoxyds und des Bleichromats, sind nach meinen Erfahrungen ungenügend, was mich zu folgender Mittheilung veranlasst.

Um das Cuprum oxydatum pur. granulat. (CuO) auf Verunreinigungen zu prüfen, giebt der Verfasser folgende vier Vorschriften:

a) 100 g entwickeln beim Erhitzen und Ueberleiten von Luft keine sauren Dämpfe.

b) 2 g werden mit Salzsäure gelöst und mit Wasser auf 100 ccm verdünnt; die Lösung ist fast klar. Sie wird mit Schwefelwasserstoff ausgefällt und das Filtrat vom Schwefelwasserstoffniederschlag verdunstet, wobei nur ein geringer Rückstand (wenig Eisen) verbleibt.

c) Die salzsaure Lösung (1:50) wird weder durch Chlorbaryum, noch durch Schwefelsäure getrübt.

d) 20 g werden mit 50 ccm Wasser auf dem Wasserbade erhitzt, das Wasser abgegossen und eingedampft, wobei kein wägbarer Rückstand verbleibt.

Das käufliche Kupferoxyd für Elementaranalysen enthält aber häufig Kalk. Diese Verunreinigung, im Falle der Kalk als Carbonat beigemischt ist, kann höchstens bei der Prüfung sub b) erkannt, aber auch sehr leicht übersehen werden. Auf den Kalkgehalt des käuflichen Kupferoxyds wurde ich zuerst durch meinen Freund, Herrn Dr. Kostanecki in Mühlhausen, aufmerksam gemacht. Ein grobkörniges Kupferoxyd für Elementaranalysen, von einer bestrenommirten deutschen Fabrik bezogen, enthielt 0.39 Proc. CaO. Einen noch grösseren Kalkgehalt enthielt das von der gleichen Fabrik bezogene pulverige Kupferoxyd. Das Präparat wurde mit verdünnter Essigsäure in der Wärme extrahirt und nach Entfernung des gelösten Kupfers durch Schwefelwasserstoff mit oxalsaurem Ammon gefällt. Die Menge des CaO war hier 1.02 Proc. Die dadurch verursachten Fehler bei Analysen, Verlust an Mühe, Zeit und häufig kostbarem Material, kann leicht jeder Chemiker bemessen. Auch von anderen Fabriken bezogene Muster erwiesen sich mehr oder weniger kalkhaltig; nur wenige waren frei davon. Woher übrigens der leicht zu entfernende Kalk herrührt, da bei der geringen Menge davon ein absichtlicher Zusatz kaum denkbar ist, darüber lässt sich nichts Bestimmtes sagen. Die wahrscheinlichste Quelle wäre das zum Auswaschen benutzte, mehr oder weniger kalkhaltige, nicht destillirte Wasser.

Anders verhält es sich mit dem chromsauren Blei. Vor etwa einem Jahre bezog ich aus einer bekannten chemischen Fabrik Norddeutschlands Bleichromat, gepulvert für Elementaranalyse, das mir schon durch seine helle Farbe auffällig war. Das Präparat wurde mit verdünnter Essigsäure, worin chromsaures Blei unlöslich ist, behandelt und das Filtrat mit Schwefelsäure ausgefällt. Die Menge des aus dem erhaltenen Bleisulfat berechneten Bleioxyds war hier 13.27 Proc. Diese absichtliche Verfälschung ist allerdings viel seltener, als wie der Kalkgehalt des Kupferoxyds. Seit dieser Beobachtung unterlasse ich jedoch nie, auch das käufliche Bleichromat auf seine Reinheit zu prüfen. Keinesfalls ist jedoch die von Dr. C. Krauch hierauf bezügliche Vorschrift genügend. Sie lautet: „Plumbum chromic. pur. (CrO_4Pb). Gelbbraunes Pulver. Beim Glühen entwickelt sich keine Kohlensäure.“

Les salicylates des crésols

par

M. Nencki.

Compt. rend. **108**, 2[illegible]

L'article publié dans les Comptes rendus[1]) et dans lequel M. Löwenthal se fondant sur ses expériences avec les bacilles du choléra, recommande l'emploi du salol, me détermine à communiquer ce qui suit.

Par un procédé analogue à celui qui est employé pour la préparation du salol, on peut, avec les crésols, préparer trois salicylates isomères. Ces corps, bien cristallisables, sont insolubles dans l'eau, difficilement solubles dans l'alcool froid. Le point de fusion est à 35° pour le salicylate d'ortho-crésol, à 74° pour celui de méta-crésol et à 39° pour celui du para-crésol. Ces corps répandent une odeur agréable, rappelant celle du salol, mais plus faible. L'éther de l'ortho-crésol produit sur la langue et le palais une très légère sensation de brûlure, tandis que celui du para-crésol est absolument insipide.

Dans l'organisme, et cela non seulement par le pancréas, mais aussi par les autres organes, par exemple par les muscles, ces corps sont décomposés en leurs constituants. D'après des expériences faites jadis dans mon laboratoire, les crésols possèdent les mêmes propriétés antiseptiques que le phénol, et par cela même les salicylates de crésol ont, comme antiseptiques, la même valeur que le salol.

Le para-crésol, produit de la décomposition du salicylate dans l'organisme, est éliminé en grande partie combiné à l'acide sulfurique, en partie aussi oxydé à l'état d'acide parabenzoïque. Outre leur goût peu prononcé, la facilité avec laquelle ils se pulvérisent, leur point de fusion moins élevé, les salicylates des crésols ont encore sur le salol l'avantage d'être inoffensifs. Il a pu être administré en vingt-quatre heures à un chien pesant 16 kg, in refracta dosi à 4 g, 16 g de salicylate de para-crésol, sans qu'il en soit résulté pour cet animal d'autre inconvénient qu'un léger malaise passager. Ces substances sont également très bien supportées par l'homme. D'après les premiers essais, faits dans la clinique du professeur Sahli avec des salicylates des crésols provenant de la fabrique du Dr. F. de Heyden successeur, à Radebeul, près Dresde, l'effet de ces substances dans le rhumatisme articulaire et les affections de la vessie serait le même que celui du salol.

L'emploi du salol dans le choléra avait déjà été recommandé par M. Sahli [illegible] dans sa première publication. D'après mes expériences physiologiques pour ce cas, où il s'agit, pour ainsi dire, de submerger l'organisme et plus spécialement le tube digestif avec une substance à la fois antiseptique et inoffensive, je crois le salicylate

[1]) Compt. rend. **107**, 1109.

d'ortho-crésol ou de para-crésol encore plus indiqué que le salol. Ces éthers étant facilement décomposés en leurs constituants et l'acide salicylique pas plus que le phénol ou le crésols n'étant des corps indifférents, il sera néanmoins bon d'user de prudence dans l'administration de ces substances chez le malade.

4 février 1889.

Ueber die Verbindungen der flüchtigen Fettsäuren mit Phenolen

von

M. Nencki.

Monatsh. f. Chem. **10**, 906.

In dem letzten mir zugekommenen Hefte des Journ. of the Chem. Soc. 1889, I, S. 546 bis 549 finde ich die Mittheilung von W. H. Perkin sen., dass Phenol mit Propionylchlorid einen Tag stehen gelassen und hernach destillirt, ausser dem bei 212° siedenden Propionsäurephenylester auch das bei 148.5° schmelzende Propionylphenol, $C_3H_5O.C_6H_4.OH$, liefert. Aus Phenol und Butyrylchlorid erhielt Perkin auf gleiche Weise ausser dem bei 227 bis 228° siedenden Buttersäurephenylester auch das bei 91° schmelzende Butyrylphenol. Es veranlasst mich dies zur folgenden kurzen Mittheilung.

Vor mehr als neun Jahren machte ich die Beobachtung, dass Eisessig, mit Phenolen und Chlorzink bis zum Sieden erhitzt, Acetylphenole, d. h. Oxyacetoketone bildet, indem das Acetyl den Wasserstoff im Benzolkern substituirt. Durch weitere Wasserentziehung entstehen aus den gebildeten Oxyketonen Farbstoffe. Gemeinschaftlich mit W. Schmid, N. Sieber und F. Rasiński[1]) habe ich eine ganze Reihe dieser Acetylphenole, so aus Resorcin, Orcin, Hydrochinon und Pyrogallol dargestellt. Vor Kurzem hat O. N. Witt[2]) auch das Acetyl-α-Naphtol erhalten. Wir zeigten ferner damals, dass Ameisensäure, mit Phenolen und Chlorzink erhitzt, nicht Formylphenole, sondern Aurine liefert. Es treten hier drei Moleküle des Phenols mit einem Molekül der Ameisensäure in Reaction, wobei zunächst das Leukoaurin und durch nachherige Oxydation zweier Wasserstoffe der Farbstoff entsteht. Ausser dem Aurin par excellence aus Phenol und Ameisensäure haben wir damals das Kresolaurin, das Orcinaurin und das Resaurin dargestellt und analysirt. Vor einigen Monaten habe ich diese Untersuchungen von Neuem aufgenommen und gefunden, dass ebenso wie die Essigsäure auch die Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure, mit Phenolen und Chlorzink erhitzt, die entsprechenden Oxyketone bilden. Es sind dies meistens schön krystallisirende, in Wasser wenig oder gar nicht, in Alkohol leicht lösliche Körper. Das Propionylphenol wird z. B. leicht erhalten, wenn zwei Gewichtstheile Chlorzink in einem Gewichtstheile Propionsäure

---

[1]) Nencki's Opera omnia **1**, 571, 587, 593 und 624.
[2]) Ber. **21**, 321.

in der Wärme gelöst und nach Zusatz von einem Gewichtstheil Phenol rasch erhitzt und fünf bis zehn Minuten im Sieden erhalten werden. Eine genauere Untersuchung dieses Körpers hat Herr Goldzweig in meinem Laboratorium unternommen und gefunden, dass der Körper in 30 Thln. siedendem und in 2900 Thln. kaltem Wasser löslich ist. Mit Kali geschmolzen, liefert er neben Phenol nur noch Paraoxybenzoësäure. Das Propionyl befindet sich also in diesem Körper in der Parastellung, wie dies schon Perkin auf Grund seiner Versuche angenommen hat. Mit Brom giebt das Propionylphenol ein schön krystallisirendes Dibromproduct und mit Salpetersäure ein ebenfalls gut krystallisirendes Nitroderivat. Analysirt wurden ferner noch das Valerylphenol, das Propionylhydrochinon, das Propionylresorcin, das Propionylpyrogallol und das Propionyl-α-Naphtol. Auch aus flüchtigen Fettsäuren und aromatischen Kohlenwasserstoffen habe ich bei Anwendung geeigneter Condensationsmittel neue Producte erhalten, welche in meinem Laboratorium untersucht werden.

Die genauere Untersuchung der ganzen Reihe dieser Oxyketone und ihrer Derivate, die etwas mehr Zeit und Mühe erfordert, möchte ich mir vorbehalten.

Neuerung in dem Verfahren zur Darstellung von Salolen

von

M. Nencki und **F. Heyden.**

D. R.-P. 46756 vom 29. August 1888. Zweiter Zusatz zum Patent 38973, vergl. ersten Zusatz 43713. (Dieser Band S. 65 und 96.) Ber. **22**, 309. Ref.

Die im Hauptpatent beschriebenen Salole werden aus Salicylsäure und Phenolen durch Behandlung mit wasserentziehenden Mitteln gewonnen. Bei diesem Process soll die o-Oxybenzoësäure durch die homologen Kresotinsäuren und die isomere p-Oxybenzoësäure, p-Methoxybenzoësäure oder p-Aethoxybenzoësäure, und die dort genannten Phenole durch Kresole, Thiophenol und Resorcinmonomethyläther, $C_6H_4{<}^{OH}_{OCH_3}$, ersetzt werden. Es wurden folgende neue Salole erhalten: Salicylsaures o-Kresol, dicke Tafeln, Schmp. 34 bis 35°; salicylsaures m-Kresol, Schuppen, 73 bis 74°; salicylsaures p-Kresol, Schuppen, 39 bis 40°; o-kresotinsaures Phenol, Nadeln, 48°; o-kresotinsaures o-Kresol, Nadeln, 38°; o-kresotinsaures m-Kresol, Nadeln, 57°; o-kresotinsaures p-Kresol, wird als flüssige Substanz erhalten und erstarrt erst nach längerer Zeit, 29°; m-kresotinsaures Phenol, Schuppen, 47°; m-kresotinsaures o-Kresol, Schuppen, 48°; m-kresotinsaures m-Kresol, kurze Prismen, 68°; m-kresotinsaures p-Kresol, lange Nadeln, 79°; p-kresotinsaures Phenol, Nadeln, 92 bis 93°; p-kresotinsaures o-Kresol, wird als flüssige Substanz erhalten und erstarrt erst nach längerer Zeit, 34°; p-kresotinsaures m-Kresol, Nadeln, 63°; p-kresotinsaures p-Kresol, dicke Säulen mit Pyramiden, 74 bis 75°; salicylsaures Roh-

kresol, aus Salicylsäure und Theerkresol, ist je nach dem Siedepunkt des angewendeten Kresols flüssig oder halbfest; rohkresotinsaures Phenol aus Phenol und der Carbonsäure des oben erwähnten Theerkresols, Eigenschaften wie vorstehend; rohkresotinsaures Rohkresol, Eigenschaften wie vorstehend; salicylsaures Methylresorcin, Pyramiden, Schmp. 68°; p-oxybenzoësaures Phenol, 176°; anissaures Phenol, 75 bis 76°; p-äthoxybenzoësaures Phenol, 110°; salicylsaures Guajacol, 65°; salicylsaures Thiophenol, 52°.

Die Herstellung dieser sämmtlichen Körper geschieht nach allen den in den Patenten 38973 und 43713 beschriebenen Methoden unter Ersatz der o-Oxybenzoësäure durch die o-Kresol-o-carbonsäure vom Schmelzpunkt 163°; m-Kresol-o-carbonsäure vom Schmelzpunkt 177°; p-Kresol-o-carbonsäure vom Schmelzpunkt 151°; Carbonsäure aus Theerkresol, Schmelzpunkt variirend; p-Oxybenzoësäure, p-Methoxybenzoësäure (Anissäure), p-Aethoxybenzoësäure, und unter Ersatz des Phenols durch o-, m-, p- und Theerkresol, Resorcinmonomethyläther, Thiophenol, Guajacol. Die Körper sollen als Heilmittel und zur Herstellung von Farbstoffen angewendet werden.

Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins und des Bilirubins

von

M. Nencki und **A. Rotschy.**

Monatsh. f. Chem. **10**, 568.

Die Raoult'sche Methode der Molekulargewichtsbestimmung ist eine wesentliche Bereicherung der chemischen Untersuchungsmethoden, und ist geeignet, vermöge ihrer Einfachheit und Eleganz die bisher üblichen Dampfdichtebestimmungen zu ersetzen. Namentlich in der biologischen Chemie konnte man erwarten, dass sie von besonderem Nutzen sein wird, da die meisten Stoffe des Thier- und Pflanzenkörpers bei ihrer Zersetzbarkeit und hohem Molekulargewicht für die Dampfdichtebestimmung sich nicht eignen. Vor Kurzem hat der eine von uns, gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) gezeigt, dass das Hämatoporphyrin nach der Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ zusammengesetzt, und somit dem Bilirubin, falls die ältere Formel von Städeler der wahren Zusammensetzung entspricht, isomer ist. Maly, der sich viel mit Untersuchungen der Gallenfarbstoffe beschäftigte, hat auf Grund seiner Analysen des Tribrombilirubins, des Biliverdins und des Urobilins die Städeler'sche Formel des Bilirubins verdoppelt und es ist kein Zweifel, dass aus der Formel $C_{32}H_{36}N_4O_6$ die Bildung der genannten Producte sich einfacher erklären lässt. Wir hofften die Frage der Isomerie des Hämatoporphyrins und des Bilirubins mittelst der Roult'schen Methode entscheiden zu können. Zu dem Zwecke haben wir Hämatoporphyrin nach dem früher beschriebenen Verfahren dargestellt, mit der

[1]) Monatsh. f. Chem. **9**, 115. — Dieser Band S. 74.

kleinen Abänderung, dass nach dem Eintragen der Häminkrystalle in den mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig die Flüssigkeit nicht sofort, sondern erst nach 24 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt wurde. Das Hämin löst sich dann vollständig auf und es findet keine Verharzung statt. Aus dem zweimal umkrystallisirten salzsauren Salze wurde durch Fällung mit essigsaurem Natron das freie Hämatoporphyrin dargestellt und im Vacuum getrocknet.

Das Bilirubin hatte Herr Professor Maly, der sich lebhaft für unsere Versuche interessirte, die Güte uns zu übersenden. Wir erhielten von ihm 3 g amorphes, nach der Vorschrift von Städeler dargestelltes Bilirubin und 1 g in völlig homogenen, rhombischen Prismen krystallisirtes Product, das vor dem Gebrauch bei 110° getrocknet wurde.

Die erhaltenen Zahlen und die daraus nach der Formel $M = \frac{T\,P\,100}{E\,D}$ berechneten Molekulargewichte veranschaulicht folgende Zusammenstellung:

Substanz	Gramm $= P$	Lösungsmittel	Gramm $= E$	Constante $= T$	Depression $= D$	Molekulargewicht $= M$	
						gefunden	berechnet
Hämatoporphyrin	0.4360	Eisessig	102.5	39	0.05°	331	f. $C_{16}H_{18}N_2O_3$ 286
„	0.0697	Phenol	16.7	76	0.14°	226	
„	0.0633	„	12.3	76	0.12°	325	
„	0.0700	„	14.2	76	0.13°	288	f. $C_{32}H_{36}N_4O_6$ 572
Bilirubin	0.0365	Aethylenbromid	98.7	118	0.03°	145.5	
„	0.0910	„	101.7	118	0.07°	150	
„ {	0.0210	Phenol	15.7	76	0.08°	127	
„ {	0.0552	„	15.7	76	0.07°	235	
„ {	0.0041	„	16.9	76	0.03°	61.4	
„ {	0.0583	„	16.9	76	0.09°	230	
„	0.0587	„	16.5	76	0.095°	286	
„	0.0168	„	15.6	76	0.06°	136.4	

Die Hauptschwierigkeit, der wir bei diesen Bestimmungen begegneten, lag in der geringen Löslichkeit der beiden Farbstoffe in den Lösungsmitteln, die hier in Betracht kommen konnten. Die Erniedrigung der Erstarrungspunkte betrug hier nicht Zehntel, sondern Hundertel eines Grades. Es erklärt sich deshalb, dass trotz der grössten Sorgfalt in der Ausführung, die z. B. für das Hämatoporphyrin gefundenen Werthe zwischen 226 und 325 schwanken. Aenderungen von $\pm$ 0.01° geben für das Molekulargewicht eine Differenz von $\pm$ 30. Temperaturdifferenzen zwischen dem Krystallisationsgefäss und der umgebenden Luft müssen auf das möglichste Minimum reducirt werden. Vergleichbar sind immerhin nur solche Erstarrungspunkte, die absolut unter gleichen Bedingungen erhalten wurden. Die angewendeten Lösungsmittel waren nicht von gleichem Werthe. Bei Eisessig und Phenol muss der Apparat wegen der hygroskopischen Eigenschaften der beiden Körper möglichst luftdicht schliessen. Da es in unserem Fall nothwendig war, den Erstarrungspunkt genau auf ein Hundertstel zu bestimmen, so war es öfters 20 mal

und mehr nöthig, die Bestimmung auszuführen, um fünf bis sechs identische Zahlen zu erhalten. Lösungsmittel dagegen, wie Aethylenbromid oder Benzol, krystallisiren stets bis auf 0.01° genau gleich. Trotzdem ist Phenol für die Raoult'sche Methode von besonderem Werthe, vor Allem wegen seines grossen Auflösungsvermögens, sodann wegen seines Schmelzpunktes und der Leichtigkeit, es in chemisch reinem Zustande billig zu erhalten. Mit dem kleinen Apparate von Beckmann und Eyckmann[1]) erhält man schon mit etwa 15 g Phenol und entsprechend kleiner Menge Substanz ganz gut stimmende Zahlen.

In Aethylenbromid, Benzol und Nitrobenzol ist das Hämatoporphyrin nur spurenweise löslich. Viel leichter in Eisessig, doch begegneten wir hier dem Uebelstande, dass das Hämatoporphyrin durch dieses Lösungsmittel chemisch verändert wird. Wir bemerkten nämlich, dass die eisessigsaure Lösung des Farbstoffes, die uns zur Bestimmung des Molekulargewichtes diente, nach einigen Tagen sich trübte und einen geringen Bodensatz absetzte. Genauere Untersuchung ergab, dass dieser Bodensatz aus braunrothen, rhombischen, sehr kleinen Krystallen bestand, welche unter dem Mikroskope ähnlich dem zuerst von Virchow in Blutextravasaten gefundenen Hämatoidin waren. Die Krystalle hatten aber alle Eigenschaften des bis jetzt nur in amorphem Zustande bekannten Anhydrid des Hämatoporphyrins, das durch Auflösen von Hämin oder Hämatin in concentrirter Schwefelsäure entsteht und nach den früheren Analysen nach der Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$ zusammengesetzt ist. Sie waren nur spurenweise in Alkohol und verdünnter Salzsäure löslich, leicht löslich dagegen in Alkalien. Die Lösungen spectroskopisch untersucht, zeigten die Absorptionsbänder des Hämatoporphyrins. In Eisessig gelöstes und in zugeschmolzenen Röhren aufbewahrtes Hämatoporphyrin verwandelt sich allmählich in diese Krystalle, die wir so in grösserer Menge darzustellen und zu analysiren beabsichtigen. Wahrscheinlich ist das in Eisessig etwas zu hoch gefundene Molekulargewicht — 331 statt 286 — durch die Bildung des Anhydrids bedingt. Die in Phenol erhaltenen Zahlen liegen innerhalb ziemlich weiter Grenzen, immerhin geht doch aus denselben sicher hervor, dass die einfache Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ und nicht die verdoppelte $C_{32}H_{36}N_4O_6$ dem Hämatoporphyrin zukommt.

Das Bilirubin ist in Benzol und Nitrobenzol nur wenig löslich. Eisessig war nicht anwendbar, da Bilirubin, darin gelöst, sich an der Luft rasch oxydirt und grün färbt. Eine gesättigte Lösung des Farbstoffes in Aethylenbromid, die nicht einmal 0.1 Proc. davon enthielt, nämlich 0.091 g in 101.7 g des Lösungsmittels, ergab uns die Zahl $M = 150$, also annähernd nur das halbe Molekulargewicht der einfachsten Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3 . M = 286$. Ebenfalls das halbe Molekulargewicht erhielten wir in einer noch verdünnteren Aethylenbromid- und etwa in 0.1 proc. Phenollösungen. Ist die Phenollösung noch verdünnter, so werden noch niedrigere Zahlen erhalten. Eine gesättigte Lösung des Bilirubins in Phenol enthält etwa 0.4 Proc. des Farbstoffes und erst bei einem Gehalte von 0.3 Proc. bis 0.4 Proc., entsprechend einem Molekül Bilirubin in tausend Molekülen Phenol gelöst, ergaben uns die Bestimmungen der Formel $C_{16}C_{18}N_2O_3$ entsprechende Werthe. Jedenfalls

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. **2**, Heft 12, S. 964 (1888).

sprechen die mit dem Bilirubin erhaltenen Resultate zu Gunsten der einfachen Formel von Städeler, $C_{16}H_{18}N_2O_3$. Wie man sieht, sind die nicht ganz scharfen Zahlen unserer Versuche durch die Schwerlöslichkeit und leichte Zersetzbarkeit der beiden Farbstoffe bedingt; sie genügen aber, um zu entscheiden, ob die aus den Analysen abgeleitete einfachste Formel die richtige ist. Es ist zu erwarten, dass andere Substanzen des Thierkörpers, wie z. B. Cholesterin, Cholalsäure, Glycogen u. s. w., die beständiger und in den gebräuchlichen Lösungsmitteln leicht löslich sind, präcisere Resultate liefern werden.

Bekanntlich fand Maly, dass Bilirubin mit Natriumamalgam in Urobilin übergeführt wird. Ein ganz ähnlicher Farbstoff wird aus Hämatoporphyrin durch Einwirkung von Zinn und Salzsäure oder Eisen und Essigsäure erhalten. Wie jedoch die späteren Untersuchungen ergaben, ist das Urobilin aus Hämatoporphyrin mit dem Urobilin aus Bilirubin nicht identisch[1]. Abgesehen von verschiedenen Löslichkeitsverhältnissen, ist namentlich das erstere viel weniger beständig. Die gleiche Umwandlung wie durch nascirenden Wasserstoff erleidet das Hämatoporphyrin theilweise im Organismus. Wir haben die früheren Versuche hierüber wiederholt und einem Kaninchen 2 g der in Wasser löslichen Natronverbindung des Hämatoporphyrins subcutan injicirt. Der in den nächsten 24 Stunden mit Katheter entnommene alkalische Harn fluorescirte stark grün. Beim Stehen setzte sich daraus ein Sediment ab, das ausser den Kalksalzen noch kleine prismatische, braunrothe Krystalle enthielt, die allem Anscheine nach Hämatoporphyrinnatron waren. Durch Ausschütteln des angesäuerten Harnes mit Amylalkohol konnten wir daraus neben unverändertem Hämatoporphyrin auch das daraus entstandene Urobilin isoliren. Der Harn enthielt kein Eiweiss, wie überhaupt das Thier keine Intoxicationserscheinungen zeigte, und gesund blieb.

Beim Uebergang von Urobilin in Harn in pathologischen Fällen haben wir demnach zu unterscheiden, ob dasselbe vom Gallen- oder Blutfarbstoff abstammt und dürfte das Urobilin des Harns nicht immer dasselbe sein. Die Annahme ist gerechtfertigt, dass in allen den Fällen, wo Blut im lebendigen Körper aus den Gefässen in das umgebende Gewebe austritt, also bei allen Hämorrhagien, das in den Harn übergehende Urobilin hämatogenen Ursprungs ist, während das im Harn bei Leberaffectionen auftretende Urobilin aus dem Gallenfarbstoff entstehen dürfte. Um Urobilin im Harne oder pathologischen Flüssigkeiten nachzuweisen, verfahren wir in folgender Weise: 10 bis 20 ccm Harn werden mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert und mit 5 bis 10 ccm Amylalkohol gelinde geschüttelt. Starkes Schütteln ist nicht rathsam, da sich sonst Schaum bildet, von welchem die obere, amylalkoholische Schicht sich nur schwer trennt. Die klare amylalkoholische Schicht, die den Farbstoff enthält, wird abgegossen und spectroskopisch untersucht. Zur völligen Sicherheit wird die Lösung mit einigen Tropfen Chlorzinklösung versetzt (1 g $ZnCl_2$ in 100 g stark ammoniakhaltigem, absolutem Alkohol — die etwa eintretende Trübung wird durch Zusatz von Alkohol und Filtration entfernt —), worauf bei geringsten uren von Urobilin die schöne grüne Fluorescenz auftritt.

[1]) Vgl. Nencki u. Sieber, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **24**, 443. — Dieser Band S. 84.

Ueber die Bildung der Paramilchsäure durch Gährung des Zuckers

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Monatsh. f. Chem. **10**, 532.

Bei Herstellung der Reinculturen von Rauschbrandbacillen haben wir gesehen, dass die aus der Geschwulst der Meerschweinchen entnommene Flüssigkeit nicht allein die bisher als die einzige Ursache dieser Krankheit angesehenen beweglichen Bacillen, sondern auch einen anaëroben Mikrococcus enthalte. Diese Mikrococcen haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 0.6 μ. Sie besitzen keine Eigenbewegung und erscheinen meistens in Form von Diplococcen, doch auch in längeren Gliedern zu 3, 4 bis 6 vereint; auch in Haufen, ähnlich den Staphylococcusformen.

In hoher Cultur wächst der Mikrococcus sowohl in Nährgelatine, wie in glycerinhaltigem Nähragar. Sein Wachsthum, namentlich bei Bruttemperatur, ist ein sehr rasches. Schon innerhalb 24 Stunden nach der Impfung treten die Colonien auf, die in den nächsten acht Tagen rasch an Umfang zunehmen. Später scheint ein Stillstand in der Vermehrung einzutreten. Sie verflüssigen Nährgelatine nicht. Sie färben sich nach Gram auch mit wässerigem Methylenblau, am besten jedoch mit Ziehl'scher Fuchsinphenollösung. Die Coccen scheinen eine Kapsel zu besitzen, doch gelang es uns nicht, dieselbe durch Färbung deutlich zum Vorschein zu bringen. Wir bezeichnen diesen Mikroben aus weiter unten anzuführenden Gründen als Mikrococcus acidi paralactici. Ob derselbe mit dem kürzlich von Gösta Grotenfelt[1]) beschriebenen Streptococcus acidi lactici, mit dem er manche Aehnlichkeit hat, identisch ist, wird man erst entscheiden können, wenn der Grotenfelt'sche Pilz auf sein Verhalten zu Kohlehydraten genauer untersucht sein wird. Sterile Milch wird durch unseren Mikrococcus bei Bruttemperatur nach 48 Stunden zur Gerinnung gebracht. Bei Zimmertemperatur erst später. Er ist pathogen und bewirkt beim Meerschweinchen Phlegmonen, welche unter geeigneten Umständen zu brandiger Nekrose und Tod des Thieres führen. Wir werden später hierauf zurückkommen.

Arloing[2]) fand, dass die Culturen des Mikrococcus septicus puerperalis, namentlich aber die Bacillen des malignen Oedems und des Rauschbrandes, die verschiedenen Kohlehydrate vergähren. Seine Angaben über die dabei auftretenden Producte sind ziemlich dürftig und lauten wie folgt:

„Si l'on étudie les produits de ces fermentations, on constate:

[1]) Fortschritte der Medicin, Jahrg. 1889, S. 124.
[2]) Compt. rend. **101**, 820.

1. Que les gaz sont constitués par un mélange à proportions variables d'acide carbonique et d'hydrogène;

2. que la partie liquide, à réaction plus ou moins acide suivant qu'on a ajouté ou non de la craie à la matière fermentescible, dégage une odeur lactique, et surtout butyrique, prononcée. Nos collègues, M. Péteaux et M. Cazeneuve, ont bien voulu examiner ce liquide et y ont constaté chimiquement la présence de l'acide butyrique. L'alcool est absent. Au commencement de la fermentation, surtout dans la lactose, il existe des traces d'acide lactique. A une certaine période de la fermentation de l'amidon, on décèle manifestement la glycose à l'aide de la liqueur cupropotassique."

Um die Spaltungsproducte des Zuckers durch die Rauschbrandbacillen zu untersuchen, verfuhren wir folgendermaassen: 2 Liter steriler Rinderbouillon[1]) aus 1 kg Fleisch wurden mit 100 g reinem, schwach geglühtem Kalkcarbonat und 200 g krystallisirtem, sogenanntem amerikanischem, von Tromsdorf in Erfurt bezogenem Traubenzucker versetzt, hierauf noch an zwei Tagen bei 100° sterilisirt, dann mit Rauschbrandbacillen von einer eben vergährten Eiweisslösung inficirt, die Luft aus dem Kolben durch Kohlensäure ausgetrieben und bei 38° stehen gelassen. Schon nach 24 Stunden fand Gasentwickelung statt, die an folgenden Tagen intensiver wurde.

Das am dritten Tage aufgefangene Gas bestand aus 72.28 Vol.-Proc. CO_2 und 27.74 Vol.-Proc. H.

Methan war nicht vorhanden. Am fünften Tage, als die Gasentwickelung nachzulassen begann, wurde wieder eine Gasprobe entnommen und analysirt. Sie bestand aus 77.96 Vol.-Proc. CO_2 und 21.89 Vol.-Proc. H. Von da ab war die Gasentwickelung nur eine sehr schwache. Am 15. Tage wurde der Versuch unterbrochen und der Kolbeninhalt untersucht. Mikroskopisch fanden sich in der schwach nach Käse riechenden Lösung nur die beweglichen, zum Theil sporenhaltigen Bacillen vor.

Die Flüssigkeit enthielt noch unveränderten Zucker, und zwar betrug die Menge desselben 69.6 g. Sie wurde destillirt, wobei aber nur Spuren eines Jodoform bildenden Körpers übergingen. Sie wurde daher mit Oxalsäure bis zur vollständige Ausfällung des gelösten Kalkes versetzt, vom Kalkoxalat abfiltrirt und von Neue destillirt. In das Destillat gingen die flüchtigen Fettsäuren, aus Essigsäure un Buttersäure, vorwiegend aus der letzteren bestehend, über. Ihre Menge war jedoc gering und betrug nur einige Kubikcentimeter. Der Retortenrückstand wurde je auf dem Wasserbade bis zum Syrup verdunstet und mit Aether extrahirt. In den Aeth ging Milchsäure über, ihre Menge betrug über 50 g und die Krystallwasser- u Zinkbestimmung ergaben, dass es Gährungsmilchsäure war. 0.8248 g bei 110° ge trocknet verloren 0.1502 g an Gewicht = 18.21 Proc. und hinterliessen nach de Glühen 0.4488 g ZnO = 26.86 Proc. Zn.

Wir wiederholten den Versuch mit der Abänderung, dass der Zucker nicht Rinderbouillon, sondern in Hefeabkochung aufgelöst wurde. Ein Liter Hefe abkochung, 25 g CO_3Ca und 100 g Dextrose wurden steril gemacht und mit ein

[1]) Ueber die Bereitung derselben vergl. Fraenkel, Grundriss der Bacterienkunde, S. 8

Rauschbrandcultur, die lange, bewegliche Bacillen und viele Sporen enthielt, inficirt. Die Luft wurde auch hier, wie in allen folgenden Versuchen, durch Kohlensäure ausgetrieben. Am folgenden Tage lebhafte Gasentwickelung, die am siebenten Tage ganz aufhörte. Die, wie im vorigen Versuche verarbeitete Nährlösung enthielt Gährungsmilchsäure. 0.2203 g des Zinksalzes verloren bei 110° 0.0397 g an Gewicht oder 18.0 Proc.

Wird eine zuckerhaltige Nährlösung nicht mit einer Reincultur, sondern mit der serösen Flüssigkeit aus der Geschwulst des rauschbrandkranken Thieres geimpft, so entsteht ebenfalls Gährungsmilchsäure. Eine sterile Nährlösung, welche auf drei Liter Wasser 3 g Pepton (Chapoteau), 100 g amerikanischen Traubenzucker und 50 g Calciumcarbonat enthielt, wurde mit einer solchen Flüssigkeit inficirt. Die Gasentwickelung begann hier erst am dritten Tage. Am sechsten Tage wurde der Versuch unterbrochen und die Nährlösung, in welcher sich bewegliche Stäbchen vorfanden, wovon nur wenige sporenhaltig waren, wie oben verarbeitet. 0.3640 g des erhaltenen Zinklactats verloren beim Trocknen 0.0659 g an Gewicht = 18.1 Proc.

Aus diesen Versuchen, und wir haben noch mehrere mit gleichem Resultat angestellt, geht mit Sicherheit hervor, dass die Rauschbrandbacillen den Zucker zunächst in die gewöhnliche, sogenannte Gährungsmilchsäure verwandeln, aus der hierauf unter Kohlensäure- und Wasserstoffentwickelung Buttersäure entsteht. Die Zersetzung des Zuckers ist keine vollständige, indem auch nach längerem Stehen, und wenn die Gasentwickelung aufgehört hat, die Nährlösung noch unveränderten Zucker enthält. Hervorheben möchten wir noch, dass die Rauschbrandbacillen aus der Zuckerlösung beim Meerschweinchen keine Erkrankung mehr hervorrufen.

Etwas anders verhält sich der aus den Rauschbrandgeschwülsten von uns isolirte Mikrococcus. Er vergährt ebenfalls Zucker, und viel intensiver und vollständiger als wie die Rauschbrandbacillen. Die hier entstandene Milchsäure ist aber die Fleisch- oder Paramilchsäure, deren Zinksalz in Wasser leichter löslich, nur zwei Moleküle Krystallwasser enthält und optisch activ ist. Wir bezeichnen daher den von uns isolirten Mikrococcus als Mikrococcus acidi paralactici.

Ein Liter Rinderbouillon, 50 g CO_3Ca und 100 g Dextrose wurde mit den Coccen inficirt. Schon nach 18 Stunden bei Bruttemperatur begann die Gasentwickelung, welche allmählich immer stärker wurde, so dass die Flüssigkeit stark schäumte. Die Gasentwickelung dauerte bis zum sechsten Tage. Am neunten Tage wurde der Kolben geöffnet, wobei ein schwacher, nicht unangenehmer Geruch nach Käse auftrat. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurden nur die Mikrococcen gefunden. Die vergährte Flüssigkeit, welche nur Spuren unzersetzten Zuckers enthielt, wurde jetzt mit Oxalsäure bis zur völligen Ausfällung des gelösten Kalks versetzt, filtrirt, eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers wurde der Rückstand mit viel Wasser versetzt und mit Zinkhydroxyd gekocht. Aus dem eingedampften Filtrate krystallisirte das Zinklactat aus, das, einmal aus Wasser umkrystallisirt, folgende Zahlen ergab: 0.279 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0.0358 g = 12.83 Proc. H_2O und hinterliessen nach dem Glühen 0.0809 g ZnO = 26.69 Proc. Wir können hier nicht genau die Ausbeute an Milchsäure angeben, doch betrug sie jedenfalls mehr als die Hälfte des ange-

wendeten Zuckers. Der Versuch wurde ceteris paribus wiederholt. diente die gleiche Cultur der Coccen, und es wurde nur Paramilchsäu 0.3856 g des Zinksalzes verloren bei 110° 0.0491 g an Gewicht = 12.8 hinterliessen nach dem Glühen 0.1215 g ZnO = 26.69 Proc. Zn. Au gährten Lösung wurden Uebertragungen des Mikrococcus auf Nährg Agar in „hoher Cultur" gemacht und durch Infection von den Cultur Neuem nur Paramilchsäure erhalten, so dass es jetzt eine leichte Sache i jetzt schwer zugängliche Säure sich in grossen Mengen zu verschaffen sonderem Interesse ist noch folgender Versuch, bei welchem die zur In wendete Cultur nicht rein war und ausser dem Mikrococcus acidi para noch Bacillen oder deren Spuren enthielt.

200 g Dextrose und 100 g CO_3Ca in zwei Liter Rinderbouillon w der Sterilisation mit einer älteren Agarcultur des Mikrococcus inficirt. 24 Stunden fand eine lebhafte Gasentwickelung statt und die Flüssigke stark. Am dritten Tage wurden innerhalb drei Minuten 44 ccm Gas deren Analyse folgendes Resultat ergab:

	Cubikcentimeter	Hg-Druck in mm	Temperatur	Auf 0° Druc V
Aufgefangenes Gasvolumen . . .	44	695	11.6	
Nach Absorption der Kohlensäure	31.4	369	12	
Nach Zusatz von Sauerstoff . . .	53.7	467	12	
Nach der Verpuffung	23.4	332	12	
Nach Zusatz von Kali	23	327	10.4	

Das Gas bestand demnach aus 62.69 Vol.-Proc. CO_2 und 37.31 V

Am sechsten Tage liess die Gasentwickelung nach und hörte am ganz auf. Am zehnten Tage wurde der Kolben geöffnet. Die mil Untersuchung zeigte, dass die vergährte Lösung ausser dem M. acid noch ziemlich viele bewegliche Bacillen enthielt. In der Lösung war Zucker mehr vorhanden.

Ein geringer Theil wurde davon in sterile Röhrchen abgegossen und menge, da sie einen alkoholischen Geruch besass, aus einer tubuli destillirt. Das Destillat gab mit Jod und Kalilauge viel Jodoform, wes mit Pottasche übersättigten, wobei sich der übergegangene Alkohol als bewegliche, oben aufschwimmende Flüssigkeit trennte. Die Menge productes betrug 13 ccm. Der Alkohol wurde über Aetzkalk getrockn einem Fractionirkölbchen destillirt. Die Temperatur stieg rasch auf 114 Siedepunkt bei 705 mm Bst. constant blieb. 0.2372 g der bei 114° übe Fraction gaben 0.5596 g CO_2 und 0.2922 g H_2O, oder 64.65 Proc. C und 1 Butylalkohol = $C_4H_{10}O$ enthält 64.87 Proc. C und 13.51 Proc. H. Nor alkohol siedet bei 760 mm Bst. und 116.9°. Der hier in Bern herrschende stand ist erheblich geringer, wodurch sich der etwas erniedrigte Sie

Alkohols erklärt, und es unterliegt keinem Zweifel, dass der erhaltene Alkohol normaler Butylalkohol war. Aus dem Retortenrückstande wurde der gelöste Kalk durch Oxalsäure vollkommen ausgefällt und die Flüssigkeit von Neuem destillirt. Es ging jetzt in grossen Mengen eine flüchtige Fettsäure über, die sich schon durch ihren Geruch als Buttersäure kennzeichnete. Das Destillat wurde mit Soda neutralisirt, zum Trocknen verdunstet, das rückständige Natronsalz mit 30proc. Schwefelsäure versetzt und die abgeschiedene Fettsäure über Phosphorsäureanhydrid getrocknet und rectificirt. Auch hier stieg der Quecksilberfaden rasch auf 158 bis 159°, bei welcher Temperatur fast alles überging. Ein Theil der überdestillirten Säure wurde in das Silbersalz verwandelt, welches nach dem Trocknen analysirt mit der Formel $C_4H_7AgO_2$ übereinstimmende Zahlen ergab. 0.0934 g des trockenen Salzes hinterliessen nach dem Glühen 0.0518 g Ag = 55.46 Proc. Ag.

Buttersaures Silber enthält 55.38 Proc. Ag. Etwa 2 ccm der Säure, mit kohlensaurem Guanidin erhitzt, gaben ein in viereckigen Tafeln krystallisirendes Guanamin [1]). Es lag also normale Buttersäure vor.

Nach Entfernung der Buttersäure wurde die rückständige Lösung, in gleicher Weise wie in früheren Versuchen, auf dem Wasserbade concentrirt, mit Aether ausgeschüttelt und die nach Abdestilliren des Aethers hinterbliebene Milchsäure durch Kochen mit Zinkhydroxyd in das Zinksalz verwandelt. Das zuerst auskrystallisirte, in Wasser schwer lösliche Salz ergab bei der Krystallwasser- und Zinkbestimmung folgende Zahlen: 0.4312 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0.0780 g an Gewicht = 18.06 Proc. H_2O und hinterliessen nach dem Glühen 0.1179 g ZnO = 26.86 Proc. Zn. Es war dies die gewöhnlich bei der Gährung auftretende Milchsäure mit 3 Mol. Krystallwasser. Die von der ersten Krystallisation abfiltrirte Lauge hinterliess nach dem Verdunsten ein Salz, das aus Wasser umkrystallisirt sich als paramilchsaures Zink erwies. 0.2887 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° getrocknet 0.0367 g an Gewicht = 12.71 Proc. H_2O. Es sind also in diesem Versuche sowohl die optisch inactive, als auch die active Milchsäure entstanden. Die Menge der ersteren war überwiegend, etwa zwei Drittel betragend, und es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass jeder der beiden in der Nährlösung vorhandenen Mikroben die seinem Stoffwechsel eigenthümliche Milchsäure gebildet hat. Die Isomerie der beiden Säuren, welche beide Aethylidenmilchsäuren sind, ist noch immer nicht aufgeklärt; ebenso die Thatsache, dass im Thierkörper und durch gewisse Mikroben aus Zucker die optisch active, durch Alkalien und durch andere bestimmte Spaltpilze dagegen die optisch inactive Modification entsteht, und es wird ein grosser Schritt in der Chemie vorwärts sein, wenn auch hierüber Klarheit gebracht wird. Noch möchten wir bemerken, dass ein mit der vergährten Nährlösung unter Zusatz von etwas Zucker und einem Tropfen Milchsäure inficirtes junges Kaninchen nach 30 Stunden an Rauschbrand zu Grunde ging. In dem Tumor fanden sich vorwiegend bewegliche, auch sporenhaltige Stäbchen vor, nur wenige Coccen, meisten-

[1]) Ueber die Anwendung des kohlensauren Guanidins zur Erkennung der flüchtigen Fettsäuren. Vergl. M. Nencki: Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876, S. 23. — Nencki's Opera omnia **1**, 201.

theils als Diplococcen; dagegen enthielt die Milz, die übrigens nicht vergrössert war, zahlreiche Coccen und Diplococcen, die auch im Herzblute vorhanden waren. Die Frage über die Beziehung des Mikrococcus acidi paralactici zum Rauschbrand und dessen pathogene Wirkung wird gegenwärtig von uns untersucht, und behalten wir uns weitere Mittheilungen darüber vor. Hier sei noch bemerkt, dass in einem Versuche, wo wir sterile Zuckerlösung mit einer anscheinend, wenigstens der mikroskopischen Untersuchung nach, Reincultur der Stäbchen inficirten, nach vollendeter Gährung darin nur Coccen vorfanden, und auch nur Fleischmilchsäure erhielten. Die nächste Erklärung dafür ist, an eine Verunreinigung der Cultur zu denken. Unwissenschaftlich wäre es aber, auch die Frage der Polymorphie der Rauschbrandbacillen nicht einer genaueren Untersuchung werth zu erachten.

Die Paramilchsäure als Gährungsproduct der Kohlehydrate ist schon wiederholt erhalten worden, so zum Beispiel von Hilger[1]) bei Gährung des Inosits mit faulem Käse, entgegen dem früheren Befunde von Strecker und Vohl, die aus Inosit die inactive Milchsäure mit 18 Proc. Krystallwasser erhielten. Der Befund Hilger's veranlasste Vohl[2]), den Gährungsversuch mit 250 g Inosit zu wiederholen, wobei er wiederum die inactive Milchsäure erhielt.

Es ist interessant zu sehen, wie der Streit, ob aus Inosit die active oder inactive Milchsäure entsteht, erst durch die Bacteriologie entschieden wird. Die Angaben beider Chemiker sind richtig, nur hat Hilger offenbar einen Mikroben bei seiner Gährung gehabt, der aus Inosit die Paramilchsäure bildet. Kurz darauf fand Maly[3]), dass bei Anwendung von Magenschleimhaut als Ferment aus den gewöhnlichen Zuckerarten „zwar nicht immer, aber doch etwa in der Hälfte der Fälle auch eine kleine Menge Paramilchsäure sich bildete. In einem Falle bestand die ganze Menge der gebildeten Säure aus Paramilchsäure“.

Mit Recht sagt Maly, dass die Entstehung von Fleischmilchsäure durch Gährung des Zuckers nicht mehr bezweifelt werden kann. Beide Aethylidenmilchsäuren, sowohl die inactive wie die active, sind Gährungsproducte der Kohlehydrate. Die Benennung „Fleischmilchsäure“ hat für die optisch active Säure keinen Sinn mehr, weshalb es von nun ab richtig sein wird, sie als Paramilchsäure zu bezeichnen. Wir wollen nicht in Abrede stellen, dass die in thierischen Geweben und namentlich im Muskel vorkommende Paramilchsäure zum geringen Theil auch aus Eiweissstoffen entstehen kann. Die wahrscheinlichste und natürlichste Annahme ist aber, dass diese Säure im Thierkörper aus Glycogen und anderen Kohlehydraten gebildet wird.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. **160**, 336.

[2]) Ber. **9**, 985.

[3]) Dessen Jahresber. f. 1874, S. 85.

Ueber das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Harn

von

E. Heuss.

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **26**, 147. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **19**, 213.

Während ältere Autoren das Vorkommen von Milchsäure im normalen Harn behaupten, und ferner in einer Reihe von Krankheitsfällen Milchsäure im Harn gefunden wurde, kamen Nencki und Sieber[1]) bei genauer Durchsicht der vorhandenen Angaben zu dem Resultate, dass sicher nur in zwei Fällen, nämlich bei acuter Leberatrophie und Phosphorvergiftung, von Schultzen und Riess (Charité-Annalen 1869) und bei Trichinose von Wiebel (Ber. 4, 139) aus dem Harne Milchsäure dargestellt und analysirt, also mit Sicherheit nachgewiesen wurde. Da nun in neuerer Zeit von Colasanti und Moscatelli (Maly's Jahresber. 17, 212) das Vorkommen von Fleischmilchsäure im Harne von Soldaten nach anstrengenden Märschen behauptet wird, hat Verfasser die Frage von Neuem aufgenommen. Es wurde vorläufig der Harn von ruhenden Personen (der chirurgischen Klinik) auf Milchsäure verarbeitet, im Wesentlichen nach der Methode von Salkowski. In drei Versuchen mit je 50 Liter Harn konnte niemals Milchsäure erhalten werden; die geringe Menge von Zinksalz, die sich einmal ergab, war hippursaures Zink. Danach kann man annehmen, dass im normalen Harn wenigstens bei Muskelruhe keine Milchsäure vorkommt. Die Resultate von Colasanti und Moscatelli sind nach Verfasser noch insoweit unsicher, als bei der Analyse des betreffenden Zinksalzes wohl ein richtiger Krystallwassergehalt von 12.61 Proc., aber ein Zinkgehalt von nur 20.9 Proc. angegeben ist, während das trockene Zinksalz 26.75 Proc. Zn enthält. Verfasser hat auch den Harn (6 Liter) einer Patientin mit weit vorgeschrittener osteomalacischer Erkrankung auf Milchsäure, aber mit gleich negativem Erfolge, untersucht.

[1]) Journ. prakt. Chem. N. F. **26**, 41. — Nencki's Opera omnia **1**, 670.

Ueber einige aldehydische Condensationsproducte des Harnstoffs und den Nachweis des letzteren

von

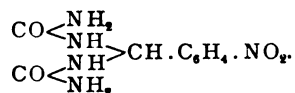
Ernst Lüdy.

Monatsh. f. Chem. **10**, 295. — Referirt von den Herausgebern.

Verfasser hat einige Condensationsproducte aus Harnstoff und Aldehyden dargestellt[1]) und solche Verbindungen auf ihre Anwendbarkeit für Isolirung und quantitative Bestimmung des Harnstoffs geprüft. In einer früheren Arbeit hat Herr Polikier[2]) veröffentlicht, dass Formaldehyd mit Harnstoff eine Verbindung — Methylenharnstoff — bilde. Aber die Versuche, im Harn mittelst Formaldehyd den Harnstoff zu bestimmen, ergaben keine constanten und zu niedrige Werthe, weil Methylenharnstoff in Salzsäure ein wenig löslich ist. Deswegen hat Herr Lüdy Methylenchloracetin, $CH_2Cl . C_2H_3O$, welches durch Wasser in Essigsäure, Salzsäure und Formaldehyd zerfällt, angewandt. Auf diese Weise glaubte er Formaldehyd in Reaction treten lassen zu können, das im status nascens wirke und unter Vermeidung eines überschüssigen Salzsäurezusatzes. Die Ausbeute war aber noch geringer, als mit Formaldehyd.

Aus Harnstoff und Acroleïn ($CH_2{=}CH{-}CHO$) gewinnt man um so leichter ein Condensationsproduct, je mehr man sich bei der Darstellung dem Verhältniss von 2 Aeq. Harnstoff zu 3 Aeq. Acroleïn nähert; das Product zeigt jedoch keine constante Zusammensetzung.

o-Nitrobenzaldehyd und alkoholische Harnstofflösungen geben Niederschläge ohne und mit Zusatz von Schwefelsäure. Das ohne H_2SO_4 erhaltene Product ist Nitrobenzylidendiureïd:

$$\begin{matrix} CO<^{NH_2}_{NH} \\ CO<^{NH}_{NH_2} \end{matrix} \!\!> CH . C_6H_4 . NO_2 .$$

Es bildet kleine Nadeln vom Schmelzpunkt 200°, die in kaltem und warm Wasser, Alkohol und Aether wenig löslich sind. Unter Zusatz von Schwefelsä bekommt man einen Körper von der Zusammensetzung $C_{19}H_{22}N_4O_7$ [= (N $C_6H_4 . CH : N)_2CO + 2 C_2H_6O$]; er ist unlöslich in kaltem und warmem Was wenig löslich in kaltem und warmem Alkohol und Aether. Das Nitrobenzylid diureïd bildet sich sowohl bei Ueberschuss von Harnstoff, wie von o-Nitr benzaldehyd, wenn man alkoholische Lösung beider auf dem Wasserbade e

[1]) Vergl. Schiff, Ann. Chem. Pharm. **151**, 186.

[2]) Siehe diesen Band S. 97.

dampft, während der zweite Körper nur bei überschüssigem Harnstoff entsteht. Das Nitrobenzylidendiureïd eignet sich wohl um den Harnstoff aus der Lösung abzuscheiden und lässt sich leicht nachweisen, da es durch verdünnte Schwefelsäure in Harnstoff und o-Nitrobenzaldehyd zerlegt wird und letzterer mehrere charakteristische Reactionen zeigt. Als empfindlichste Reaction auf o-Nitrobenzaldehyd empfiehlt Verfasser die Einwirkung des Phenylhydrazins, wobei sich das Phenylosazon des o-Nitrobenzaldehyds, $C_6H_5NH.N:CH.C_6H_4.NO_2$, bildet. Der Körper stellt orangegelbe, prismatische Tafeln vom Schmelzpunkt 148° dar. Im Falle der geringsten Mengen ist er noch leicht durch orangegelbe resp. rothe Färbung nachweisbar.

Der Nachweis von Harnstoff gestaltet sich demnach wie folgt. Der alkoholische Auszug des syrupartigen Verdampfungsrückstandes aus der eventuell Harnstoff enthaltenden Flüssigkeit wird mit einer alkoholischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd versetzt. Nitrobenzaldehyd muss in solcher Quantität vorhanden sein, dass aller Harnstoff, der muthmaasslich angenommen werden darf, in Reaction treten kann. Die alkoholische Lösung wird auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft und nachher mit Alkohol übergossen, kurze Zeit erwärmt und der Alkohol abgegossen, dies zwei- bis dreimal wiederholt, d. h. so lange, bis alle in Alkohol löslichen Stoffe wieder entfernt sind und der Alkohol mit Phenylhydrazinlösung keine Farbenreaction mehr zeigt, also auch überschüssig zugesetzter Nitrobenzaldehyd verschwunden ist. War Harnstoff vorhanden, so hinterbleibt das Condensationsproduct — Nitrobenzylidendiureïd — als weisslicher, pulveriger Körper. Es ist bemerkenswerth, dass Nitrobenzylidendiureïd sehr intensiv an den Wänden der Porcellanschale haftet und in Folge dessen auch bei minimalen Mengen sehr leicht wahrgenommen werden kann. Nunmehr wird der Rückstand mit wenig verdünnter Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin übergossen, mit etwa fünf bis zehn Tropfen einer etwa 10 proc. Schwefelsäure versetzt und zum Sieden erhitzt. War der Rückstand wirklich Nitrobenzylidendiureïd, so wird sich die Flüssigkeit sogleich röthen, in Folge Bildung des schon erwähnten Farbstoffes — des Phenylosazons des o-Nitrobenzaldehyds. Auf diesem Wege konnten 0.005 g Harnstoff noch gut nachgewiesen werden, ja sogar war die Anwesenheit von 0.001 g zu constatiren. Man kann auch das Nitrobenzylidendiureïd nach dem Zersetzen durch angesäuertes Wasser mit etwas Natronlauge und einigen Tropfen Aceton behandeln, wodurch nach einiger Zeit die Bildung von Indigblau erfolgt; 3 mg Harnstoff können damit noch aufgefunden werden.

Ueber die Spaltung des Fettes in den Geweben und das Vorkommen von freien Fettsäuren in denselben

von

Ernst Lüdy.

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **25**, 347. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **19**, 37.

Prof. Nencki hat nachgewiesen, dass die Salicylsäureester von den meisten Geweben des Körpers insbesondere bei alkalischer Reaction zerlegt werden; es lag daher nahe, anzunehmen, dass ausser dem Pankreas noch andere Organe des Körpers die Fähigkeit besitzen würden, Neutralfette in ihre Componenten zu spalten. Bevor Verf. die Lösung dieser Frage in Angriff nahm, mussten einzelne Organe auf ihren Gehalt an Fett, Fettsäure und Seife untersucht werden. Dazu wurden die frischen Organe (von Kaninchen) fein zerhackt, und wiederholt mit Aether ausgeschüttelt; die das Neutralfett und die Fettsäuren enthaltenden Aetherrückstände wurden mit alkalisch gemachtem Wasser durchgeschüttelt und abermals mit Aether ausgezogen (Neutralfett). Nach dem Ansäuern wurden durch Aether die als freie Säuren vorhandenen Fettsäuren und endlich durch angesäuerten Aether dem ursprünglichen Organbrei die Fettsäuren der Seifen entzogen. So enthielt z. B. ein soeben getödtetes Kaninchen in

	Fett	Fettsäure	Fettsäuren aus Seife
Muskel	0.6614 Proc.	0.025 Proc.	0.0068 Proc.
Leber	0.843 „	0.3425 „	0.0616 „
Niere	0.522 „	0.219 „	0.0548 „

Andere Proben von Muskeln, Pankreas u. s. w. blieben verschieden lange Zeit theils bei Lufttemperatur, theils am Eis liegen und wurden dann auf ihren Fett- resp. Fettsäuregehalt geprüft. Es ergaben sich folgende Resultate: Die Menge der Fettsäure nimmt beim Aufbewahren des Fleisches bei Zimmertemperatur zu. Je länger das Fleisch am Stück aufbewahrt wird (bei 8 bis 12°), um so grösser ist sein Fettsäuregehalt; acht Tage lang am Stück aufbewahrtes Fleisch reagirt sauer und ist als Esswaare noch verwendbar. Beim Aufbewahren im Eisschrank bleibt der Fettsäuregehalt constant, oder nimmt eher ab. Beim Stehen im Thermostaten bei Bruttemperatur nimmt die Menge des Neutralfettes ab, die der Fettsäure zu, doch nicht in erheblichen Mengen. Die Bauchspeicheldrüse bildet ceteris paribus viermal so viel Fettsäure, wie der Muskel desselben Thieres; beim Pankreas allein ist schon nach 16stündigem Stehen im Thermostaten die Menge der freien Fettsäure grösser, als wie die des Neutralfettes. In stark alkalischer Lösung bei Bruttemperatur, unter Abhaltung jeder Fäulniss durch Glycerin, ist die erwähnte Fettspaltung bei Pankreas, Leber, Niere grösser, als ohne Alkalizusatz; die Fettspaltung

nimmt in allen Geweben mit der Menge des Alkalis zu, auch hier ist stets beim Muskel die Menge der erhaltenen nicht flüchtigen Fettsäuren die geringste. Zwischen den einzelnen Geweben besteht also ein Unterschied in ihrer fettspaltenden Wirkung sowohl in saurer, wie alkalischer Lösung. Pankreas, Leber und Niere haben ausserdem die Fähigkeit, den Fetten analoge Verbindungen zu zersetzen (Tribenzoicin), was Muskel nicht thut. Einzelne Versuche schienen auch auf die Existenz einer fettspaltenden Spaltpilzart hinzuweisen. Verf. sieht als wahrscheinlich an, dass im lebenden Organismus die Spaltung der Fette eine viel vollständigere ist; die stärkste hydrolytische Wirkung kommt dem Pankreas und der Leber zu, durch welche beide Drüsen in natürliche Fette, Phenolester und Säureanhydride[1]) zerlegt werden. Beträchtlich geringer ist die Wirkung des Muskels, welcher Neutralfett nur sehr unvollkommen, Tribenzoicin gar nicht, wohl aber Phenolester und Säureanhydride zu spalten vermag.

Ueber das Verhalten der Amidosalicylsäuren im Organismus

von

J. Pruszyński.

Gazeta Lekarska No. 49 u. 50. — Nach dem Autoreferate abgedruckt. Maly's Jahresber. **22**, 76.

Verf. untersuchte das Verhalten im Organismus von drei isomeren Amidooxybenzoësäuren, namentlich der Orthoamidosalicylsäure (3-Amido-2-oxybenzol-1-carbonsäure), der Paramidosalicylsäure (5-Amido-2-oxybenzol-1-carbonsäure) und der Amidoparaoxybenzoësäure (3-Amido-4-oxybenzol-1-carbonsäure). Die untersuchten Säuren wurden von Hunden in Dosen von 3 bis 8 g pro die ohne wesentliche Störungen vertragen, am wenigsten noch die Amidoparaoxybenzoësäure. Antiseptische Eigenschaften kommen den Säuren in beschränktem Maasse zu. Am stärksten für die Bacterien entwickelungshemmend erwies sich noch die Orthoamidosalicylsäure. Diese letzte Säure, sowie die Paramidosalicylsäure werden von Hunden und Kaninchen zum grössten Theil als die entsprechenden Uramidosäuren $= C_6H_3(OH)(CO_2H)(NHCONH_2)$ ausgeschieden. Die Orthoamidosalicylsäure wurde zum geringen Theil unverändert aus dem Harne erhalten. Bei der Fütterung mit der Paramidosalicylsäure wurde ausser der Uramidosäure noch in geringer Menge eine schwarze amorphe Substanz erhalten, welche 53.2 Proc. C, 4.0 Proc. H und 9.2 Proc. N enthielt. Nach Fütterung mit Amidoparaoxybenzoësäure hat Verf. das Umwandlungsproduct aus dem Harne nicht isolirt. Die Amidosalicylsäuren verhalten sich im Organismus ähnlich, wie dies schon früher Salkowski[2]) bezüglich der Metamidobenzoësäure, die ebenfalls als Uramidosäure ausgeschieden wird, gezeigt hat.

---

[1]) Salkowski, Centralbl. med. Wissensch. 1887, Nr. 51.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 93.

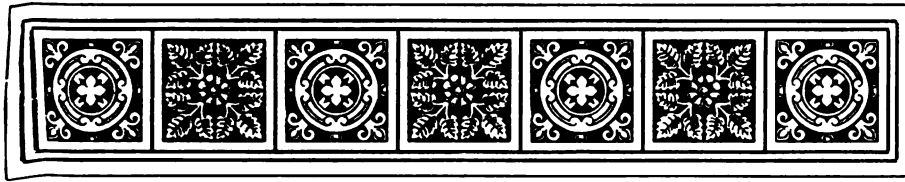
Ueber die antiseptische Wirkung der isomeren salicylsauren Kresole, des salicylsulfonsauren Natriums und des α-oxynaphtolsulfonsauren Natriums, sowie das Verhalten der beiden letzteren Körper im Organismus

von

Hedwig Zimmerli.

Inaugural-Dissertation, Bern. — Referirt von den Herausgebern.

Antiseptische Wirkung der genannten Körper hat der Verfasser auf folgende Weise bestimmt. Die genau abgewogenen Mengen derselben wurden innig mit Fleisch oder Pankreas fein verrieben und mit einem abgemessenen Quantum Wasser versetzt. Solche Proben wurden in kleinen Kölbchen im Thermostaten bei 38° gehalten und täglich je nach 24 Stunden auf Geruch und mikroskopisch geprüft. Vergleichswegen wurde auch eine Versuchsreihe mit Salol angestellt. Aus allen diesen Versuchen ging hervor, dass die salicylsauren Kresole entschieden Antiseptica in ihrer Wirkung analog dem Salol sind. Sie zerlegen sich in Berührung mit organisirten Materien bei der Bruttemperatur in ihre Componenten und bewirken eine Hemmung der fermentativen Processe. In Mischungen mit Pankreas erweist sich salicylsaures o-Kresol am schwächsten (eine Probe von 4 Proc. Concentration roch faulig schon am 4. Tage), salicylsaures p-Kresol am höchsten antiseptisch (eine 1 proc. Probe bleibt bis zum 14. Tage geruchlos). Im Vergleich mit Salol sind die salicylsauren Kresole schwächer. Was das saure salicylsulfonsaure Natrium, $C_6H_3(OH)(CO_2H)(SO_3Na)$, betrifft, so hat es sich erwiesen, dass ein Gehalt von diesem Salze bis 1 Proc. in keinem Falle im Stande ist, die Entwickelung von Mikroben zu verhindern. α-Oxynaphtolsulfoncarbonsaures Natrium, $C_{10}H_5(OH)(CO_2H)(SO_3Na)$, besitzt eine sehr schwache antiseptische Kraft.

Beide letzten Substanzen sind bei innerlichem Gebrauche (Hunde und Menschen) in Dosen von 4 bis 6 g ohne Schaden verträglich. Aus dem Harne des Hundes, welcher 8 g saures salicylsulfonsaures Na bekommen hatte, wurde ein Körper aus dem ätherischen Extracte isolirt, der sich nach mehrmaligem Umkrystallisiren als N-haltig erwies und dessen Elementaranalysen mit der complexen Formel $C_6H_3(OH)(CO_2H)(SO_3Na) + CON_2H_4 + H_2O$ am besten stimmten. In diesem Körper konnte man den Harnstoff direct nachweisen. Ein zweites Mal wurde dieser Körper nicht ausgeschieden, nur aus dem alkoholischen Extracte hat Verf. eine andere N-freie Substanz isolirt, welche nach ihren analytischen Befunden am besten der Formel $C_6H_3(OH)(CO_2Na)(SO_3Na) + C_6H_3(OH)(CO_2H)(SO_3Na)$ entsprach. Das saure Natriumsalz der α-Naphtolsulfonsäure scheint den Organismus unverändert zu passiren.

1890

Die Enzyme in der Therapie

von

M. Nencki und **H. Sahli.**

Correspondenz-Blatt für Schweiz. Aerzte **20**. — Gazeta Lekarska No. 48.

Es ist bekannt, dass Peptone, in das Blut injicirt, eine toxische Wirkung auf den Organismus ausüben, und es ist unseres Wissens zuerst Schmidt-Mühlheim, welcher vor etwa zehn Jahren darauf aufmerksam machte. Ebenso alt ist die Beobachtung von J. Béchamp und E. Baltus, dass intravenöse Injection von Enzymen auf den Organismus eine stark giftige Einwirkung hat. 0.35 g Malzdiastase und 0.15 g Pankreatin pro Kilo Körpergewicht erwiesen sich nach Einspritzung in die Blutbahn bei Hunden als tödtlich. Es erfolgt Erbrechen, blutige Diarrhoeen und die Autopsie zeigt meist starke Congestion und reichliche Hämorrhagien in den Organen. In dem Harne war das injicirte Enzym nachweisbar. Man würde diese Substanzen nach der neuesten Sprechweise als Toxalbumine bezeichnen.

Peptone und die sie bildenden Enzyme gehören zu den Eiweisskörpern. Bezüglich der ersten herrscht wohl kein Zweifel. Dass dies auch bezüglich der Enzyme der Fall ist, hat vor mehreren Jahren O. Loew[1]) gezeigt. Speciell das Pankreatin, das besonders auf seine proteolytische und saccharificirende Wirkung geprüft war, hatte, abgesehen von dem allgemeinen Verhalten, auch die gleiche procentische Zusammensetzung wie echte, in der Hitze gerinnende Eiweisskörper.

Man kann auf Grund der bisherigen Forschung sagen, dass es kein Lebewesen giebt, selbst wenn es nur ein einzelliger Organismus ist, welches nicht Enzyme (lösliche Fermente) producire. Ja gerade bei den niedrigsten Organismen, wie den Algen und Spaltpilzen, sind in der letzten Zeit sehr wirksame Enzyme aufgefunden worden.

In einer vor mehreren Jahren veröffentlichten Arbeit[2]) hat der eine von uns seine Ansicht über die Natur der Enzyme mitgetheilt und wir wollen einige Sätze

[1]) Pflüger's Archiv **27**, 203.

[2]) Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmak. **20**, 345. — Nencki's Opera omnia **1**, 805.

daraus hier anführen: „Ich halte dafür, dass die Wirkung der Enzyme auf die in ihrem Molekül enthaltenen labilen Gruppen zurückzuführen ist . . . . . Eine ausserordentliche Unbeständigkeit gehört mit zu den charakteristischen Eigenschaften der Enzyme. Säuren, Alkalien, Metallsalze, mehr oder weniger concentrirt, machen sie unwirksam; ebenso längere oder häufige Behandlung mit Alkohol. Selbst durch längeres Aufbewahren im trockenen Zustande bei gewöhnlicher Temperatur werden ursprünglich sehr wirksame Enzyme öfters, zu unserer unangenehmen Ueberraschung, unlöslich und unwirksam. Ebenso vertragen die Enzyme, namentlich feucht, keine höheren Temperaturen, obgleich für die verschiedenen thierischen und pflanzlichen Enzyme die oberste Temperaturgrenze innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankt. In den Enzymen ist bereits eines von den Grundphänomenen des Lebens, nämlich die Irritabilität, enthalten; denn gegen die chemischen, thermischen und elektrischen Reize ist das Verhalten der Enzyme und des lebendigen Protoplasmas in vielen Fällen das gleiche. Es ist nur natürlich, dass noch die Biologen der dreissiger Jahre, durch solche Aehnlichkeiten verleitet, die Enzyme und die einzelligen, fermentative Processe bewirkenden Organismen für gleichwerthig gehalten haben. Auf welche Weise aus dem inerten das labile Eiweiss entsteht, darüber können wir jetzt nur Vermuthungen aussprechen. Die Annahme ist naheliegend, dass dies durch eine Art fermentativer Wirkung selbst geschieht. Enzyme wirken wie die verdünnten Säuren und durch verdünnte Säuren werden aldehydische Derivate unter Regeneration der Aldehydgruppen gespalten."

Ueber die Vertheidigungsmittel des thierischen, resp. menschlichen Organismus gegen die Invasion der Mikroben bei Infectionskrankheiten ist in den letzten Jahren viel gestritten worden. Metschnikoff suchte sie in seinen Phagocyten. Neuerdings hat man die bacterientödtende Wirkung im Blutserum gefunden und es unterliegt keinem Zweifel, dass mit der Zeit unsere Kenntniss der Mittel und Wege, deren sich der Organismus zu seiner Vertheidigung bedient, sich vergrössern wird. So verschiedenartig die Wirkung der pathogenen Mikroben auf unseren Körper ist, so mannigfaltig vielleicht sind die Reactionsweisen des Organismus dagegen. Es ist nun naheliegend, dass die so leicht veränderlichen und reactionsfähigen Enzyme mit eine von den Waffen sind, deren der Thierkörper sich zur Bekämpfung der Infectionskrankheiten bedienen könnte. Es ist merkwürdig, dass unter normalen Verhältnissen die Enzyme des Verdauungstractus, und auch die Peptone, entweder gar nicht oder nur in minimalen Mengen in die Blutbahn gelangen. Von den Peptonen wissen wir, namentlich durch die Arbeiten Hofmeister's, dass sie bereits in der Schleimhaut des Verdauungsschlauches in echte, in der Hitze gerinnende Eiweisskörper verwandelt werden. Bei den labilen Enzymen dürfte die Ueberführung in eine inactive Form ebenfalls sehr leicht geschehen. Man sollte meinen, dass die jenseits des Verdauungscanals liegenden Organe gegen die toxische Wirkung der Enzyme und der Peptone geschützt sein sollten. Diese Einrichtung ist wohl zweckmässig unter normalen Verhältnissen. Werden jedoch einzelne Organe des Körpers durch Mikroben bedroht, so wäre es wohl möglich, durch locale Zufuhr der wirksamen Enzyme dem betreffenden Gewebe zu siegreichem Kampfe gegen die Spaltpilze zu verhelfen.

Nach den Untersuchungen von Langhans sind die Sarkome durch einen grossen Glycogengehalt ausgezeichnet und man konnte erwarten, dass durch Injection eines stark saccharificirenden Enzyms in das Gewebe das Glycogen gelöst, resp. dessen Bildung gestört und vielleicht dadurch überhaupt das Wachsthum des Neoplasmas sistirt sein wird. Vielleicht ist die beobachtete günstige Wirkung bei Impfung des Streptococcus Erysipelatos auf maligne Tumoren die Folge eines von den Coccen gebildeten Enzyms. Von Bouchard und auch Anderen ist gezeigt worden, dass die durch den Stoffwechsel eines Mikroben gebildeten löslichen Producte den Organismus gegen die Mikroben immun machen. Im gewöhnlichen Sprachgebrauche bezeichnen wir nur diejenigen Albumosen als Enzyme, welche eine proteolytische, fettspaltende oder saccharificirende Wirkung haben. Diese Begriffsbestimmung ist zu eng und es giebt sicher in unserem Körper Albumosen mit labilem Molekül, die auch andere Wirkungen ausüben, wie z. B. das Fibrinferment.

Von diesen Gesichtspunkten aus haben wir, nach vorausgegangenen orientirenden Versuchen an Thieren, Versuche bei einzelnen Krankheiten unternommen. Wir behalten uns vor, sowohl über die Thierversuche, als über die an Kranken beobachtete Wirkung später zu berichten. Veranlassung, die Gesichtspunkte, von welchen aus wir unsere Versuche angestellt haben, schon jetzt zu veröffentlichen, geben uns die eben erschienenen „Weitere Mittheilungen über ein Heilmittel gegen Tuberculose von Prof. R. Koch", wo, den wenigen Andeutungen über die chemische Beschaffenheit zu Folge, namentlich aber wegen der Aehnlichkeit in der physiologischen Wirkung nach subcutaner Injection, sein wirksamer Impfstoff eine solche enzym- oder peptonartige Substanz sein könnte. Diese Vermuthung ist uns auch deshalb naheliegend, als vor mehr als zwei Jahren in unserem Laboratorium von Herrn Dr. Hammerschlag gelegentlich seiner Arbeit über die chemische Zusammensetzung der Tuberkelbacillen ein stark toxischer, albumoseartiger Körper aus der Leibessubstanz dieser Mikroben isolirt wurde [1]).

Bern, den 16. November 1890.

Bestimmung des Molekulargewichtes der Cholalsäure, des Cholesterins und des Hydrobilirubins nach der Raoult'schen Methode

von

John J. Abel.

Monatsh. f. Chem. 11, 61.

Die in Nachfolgendem mitzutheilenden Bestimmungen habe ich ausgeführt, um zu ermitteln, inwiefern die Raoult'sche Methode bei hochmolekularen Verbindungen anwendbar ist, respective wie weit die Concentration der Lösungen gesteigert werden muss, um richtige Zahlen zu erhalten. Betrachten wir nämlich die Raoult'sche Formel,

[1]) Monatsh. f. Chem. 10, 9. — Dieser Band S. 121.

$$M = \frac{T.P.100}{D.L},$$

worin M das Molekulargewicht, T die molekulare Depression, P das Gewicht de Substanz, L das Gewicht des Lösungsmittels und D die beobachtete Depressio bedeutet, so wird bei wachsendem Werthe von M, die Werthe T, P und L al unverändert vorausgesetzt, die beobachtete Depression immer kleiner. Um nun di Erniedrigung des Erstarrungspunktes der Lösung (den Werth D) auf etwa 0.5° C zu treiben, wie dies Raoult für wässerige Lösungen verlangt, muss bei hoch molekularen Körpern der Werth T grösser oder L kleiner, d. h. die Concentratio der Lösung erhöht sein. Vor Kurzem haben Nencki und Rotschy[1]) die inter essante Streitfrage, ob die Zusammensetzung des Bilirubins der einfachen Form $= C_{16}H_{18}N_2O_3$ oder der verdoppelten $= C_{32}H_{36}N_4O_6$ entspricht, mittelst de Raoult'schen Methode zu entscheiden gesucht. Ihr Vorhaben kann kaum al gelungen angesehen werden, indem das Bilirubin in sämmtlichen hier in Betrach kommenden Lösungsmitteln zu wenig löslich ist, respective dadurch, wie z. B. durc Eisessig, verändert wird. Als das beste Lösungsmittel des Bilirubins erwies sich da Phenol. Eine gesättigte Lösung des Bilirubins in Phenol enthält etwa 0.4 Proc. de Farbstoffes und erst bei einem Gehalte von 0.3 bis 0.4 Proc., entsprechend einer Molekül Bilirubin in 1000 Molekülen Phenol gelöst, ergaben die Bestimmungen de Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ entsprechende Werthe[2]). Welche Depressionen, respective da daraus erhaltene Molekulargewicht erhalten worden wäre, wenn nicht 1 Mol., abe 2, 3 bis 10, z. B. in Phenol gelöst wären, das zeigen die Versuche von Nencki un Rotschy eben wegen der Unlöslichkeit dieses Farbstoffes nicht.

Es war wünschenswerth, festzustellen, ob Phenol sich ähnlich wie Eisessi verhält, von welchem Auwers[3]) auf Grund seiner Beobachtungen angiebt, dass di Depressionen nicht erst, wenn dieselben einen halben Grad erreicht haben, anfange normal zu werden, sondern dass Lösungen in Eisessig bereits von den kleinste Erniedrigungen des Erstarrungspunktes dem Raoult'schen Gesetze folgen. O diese Beobachtung Auwers' für alle Substanzen gültig ist, ist noch nicht erwiesen Es war daher geboten, Substanzen von hohem Molekulargewicht anzuwenden, di einerseits hinreichend beständig, andererseits in den hier in Betracht kommende Lösungsmitteln leicht löslich sind. Zwei solche Substanzen des Thierkörpers sin das Cholesterin und die Cholalsäure.

Die letztgenannte Verbindung, die Cholalsäure, habe ich mir selbst aus Rinder galle, mit einer kleinen Abänderung nach der Vorschrift von Mylius[4]), dargestell Mylius kocht die Galle mit einem Fünftel ihres Gewichtes von 30 Proc. NaOl 24 Stunden unter Erneuerung des verdampfenden Wassers. Ich habe es vo gezogen, die mit der von Mylius angegebenen Natronlauge versetzte Galle in einer Autoclaven 3 bis $3^1/_2$ Stunden bei 130° zu erhitzen. Durch wiederholtes Um krystallisiren des gleich Anfangs krystallinischen Rohproductes erhielt ich da

[1]) Monatsh. f. Chem. **10**, 568. — Dieser Band S. 127.
[2]) Nencki und Rotschy, l. c. — Dieser Band S. 128.
[3]) Ber. **21**, 708.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem., **12**, 262.

Alkoholat der Cholalsäure in Form von weissen, gut ausgebildeten Tetraëdern. Durch mehrmaliges Auflösen derselben in einer 1 proc. Natronlauge[1]) und Wiederausfällen mit verdünnter Salzsäure erhielt ich die freie Säure in reinem Zustande als amorphes Product. Wird solches Präparat Anfangs an der Luft, sodann über H_2SO_4 und hierauf zuerst 24 Stunden zwischen 90 bis 100° und dann fünf bis sechs Tage bei 120 bis 130° getrocknet, so erreicht es doch nicht ein constantes Gewicht. Die Schmelzpunktsbestimmung der auf diese Weise getrockneten Säure zeigte, dass sie erst bei 174° schmilzt. Dies stimmt mit der Angabe von Latschinow überein. Trocknet man weniger lange, z. B. nur zwei Tage, so finde ich, dass die Säure bei 137° anfängt zu sintern und bei 150 bis 152° vollständig geschmolzen ist. Trotzdem ergab die Elementaranalyse der durch Fällung mit Salzsäure dargestellten Cholalsäure mit der Formel $C_{24}H_{40}O_5$ gut stimmende Zahlen. 0.2425 g Cholalsäure gaben 0.6273 g CO_2 und 0.2146 g H_2O, oder 70.54 Proc. C und 9.83 Proc. H. Die Formel $C_{24}H_{40}O_5$ verlangt 70.59 Proc. C und 9.80 Proc. H.

Das Alkoholat schmilzt bei 195° und verliert 10.3 bis 10.5 Proc. Alkohol beim Trocknen im Luftbade bei 110° bis zur Gewichtsconstanz. Zum Beispiel, 2.4941 g Alkoholat verloren 0.2571 g an Gewicht, also 10.3 Proc., und 0.7512 g verloren 0.0788 g, also ein Verlust von 10.48 Proc. Die Formel $C_{24}H_{40}O_5 . C_2H_5OH$ verlangt 10.36 Proc. Alkohol.

Die freie reine Cholalsäure, sowie das Alkoholat sind in Eisessig und Phenol leicht löslich, weshalb ich auch meine Molekulargewichtsbestimmungen in diesen beiden Lösungsmitteln ausführte.

Fig. 4.

Den von mir benutzten einfachen Apparat veranschaulicht die nebenstehende Zeichnung. Das Thermometer war von Goetze in Leipzig aus Jenaer Glas angefertigt, hat eine Scala von fünf Graden (Ziffern willkürlich) zu $^1/_{100}$ Grad getheilt und ist am oberen Ende mit einem Quecksilberreservoir versehen. Das Thermometer steckt durch einen luftdicht schliessenden, elastischen Gummikork in dem im Inneren die Lösung enthaltenden Gefässe *G*. An dem Korkring *R* wird der Mantel *M* befestigt. Statt eines Glas- oder Platinrührers wird die Lösung durch rotirende Drehbewegungen am Knopfe des Thermometers, *K*, in Bewegung gesetzt. Durch den elastischen Kork wird die Bewegung am Knopfe der Quecksilberkugel mitgetheilt und dadurch noch der Vortheil erreicht, dass bei hygroskopischen Lösungsmitteln, wie z. B. Eisessig, der Verschluss ein luftdichter ist. Diese Vorrichtung hat gegenüber dem kleinen Eyckmann'schen[2]) Apparate den Vortheil, dass ein Thermometer mit feiner Eintheilung benutzt wird, und dass Lösungen von 10 bis 50 g, je nach der Grösse des inneren Gefässes *G*, durch die gleichmässig rotirende Bewegung (bei vollständig luftdichtem Verschlusse) sehr innig gemischt werden. In meinen Versuchen hatte das innere Gefäss ein Lumen von 2 bis 2.5 cm, eine Länge von 13 bis 15 cm und eine Wanddicke von 0.8 bis 1 mm.

---

[1]) Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**, 182.

[2]) Zeitschr. f. physik. Chem. **2**, 12 (1888).

Latschinow[1]) fand, dass die Cholalsäure, in Phenol gelöst, sich damit z cholalsaurem Phenolat verbindet, welches durch Zusatz von Benzol in schöne Krystallen gefällt wird. Die Krystalle, mit Benzol ausgewaschen, verändern sic nicht an der Luft. Latschinow fand darin 71.55 Proc. C und 9.43 Proc. H Beim Erwärmen auf 120° verlieren die Krystalle Phenol. In drei Bestimmunge betrug der Verlust 16.44 Proc., 16.64 Proc. und 16.60 Proc. Die Strecker'sche Formel des cholalsauren Phenolats = $C_{24}H_{40}O_5 . C_6H_6O$ verlangt einen Verlust vo 18.72 Proc. Phenol, die Latschinow'sche Formel = $C_{25}H_{42}O_5 . C_6H_6O$ einen Verlust von 18.21 Proc. Sowohl die Zahlen der von Latschinow mitgetheilten Elementaranalyse, sowie auch der Phenolverlust stimmen weder mit der Strecker'schen, noch mit der Formel von Latschinow gut überein. Die Differenz in den theoretisch für die eine wie für die andere berechneten Werthen von C, H und Phenol ist jedoch nur gering. Ohne auf die Streitfrage einzugehen, ob die Strecker'sche Schreibweise oder die von Latschinow vorgeschlagene die richtige sei, ist es doch am Platze, die Möglichkeit hervorzuheben, dass nicht Alles von der Cholalsäure in Phenolat verwandelt wurde. Latschinow fand beim Verdunsten des Phenols einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von 16.56 Proc. Nimmt man nun an, dass ein Molekül Phenol von einem Molekül der Säure gebunden wird, und dass das von Latschinow gefundene Deficit an Phenol sich nach der geäusserten Vermuthung erklären lässt, so enthielten 100 Gewichtstheile eines vermeintlichen Phenolats in Wirklichkeit nur 88.46 Proc. des Phenolats und 11.54 Proc. der nicht an Phenol gebundenen Säure (nach der Strecker'schen Formel gerechnet), nach der Schreibweise von Latschinow 90.93 Proc. des Phenolats und 9.07 Proc. der freien Säure. Unter dieser Annahme würden die von Latschinow gefundenen Zahlen für C und H auch mit den für die Strecker'sche Formel berechneten übereinstimmen. Dass die Uebereinstimmung der auf diese Weise berechneten Werthe von C und H weniger gut ist für die von Latschinow erhaltenen Zahlen nach dem Verjagen des Phenols, dürfte nicht befremden, da man die zurückbleibende Säure erst wieder aus Alkohol umkrystallisiren sollte, bevor sie zur Analyse verwendet wird.

Zu den Molekulargewichtsbestimmungen benutzte ich die durch Trocknen des Alkoholats bis zur Gewichtsconstanz gewonnene freie Säure. Die freie Säure, welche durch Fällung des Natronsalzes mit HCl gewonnen wird, hält hartnäckig, wie schon Eingangs erwähnt, H_2O zurück, hat nicht einen constanten Schmelzpunkt und bräunt sich ein wenig beim langen Trocknen bei 120 bis 130°. Aus diesen Gründen habe ich es vorgezogen, mit der aus dem Alkoholat durch Trocknen gewonnenen Säure zu arbeiten, trotzdem dass die mitgetheilte Elementaranalyse der durch Fällung gewonnenen Säure sehr gut mit der gebräuchlichen Formel übereinstimmt.

Folgende Tabelle veranschaulicht die mit verschiedenen Concentrationen der Lösung gewonnenen Zahlen, wo Phenol als Lösungsmittel angewendet wurde. Das Phenol schmolz bei 41.8° und wurde von der Badischen Anilin- und Sodafabrik als reines synthetisches Phenol bezogen.

---

[1]) Ber. **20**, 3278.

Für cholalsaures Phenolat, $C_{24}H_{40}O_5 . C_6H_6O$, berechnet sich *M* auf 502. Werden nur 88.46 Proc. der Säure als in Phenolat verwandelt angenommen und der Rest von 11.54 Proc. der Cholalsäure als einfach gelöst, so würde der durchschnittliche Werth von *M* gleich 491.15 sein.

Tabelle I.

D	*P*	*L*	*M* gefunden	Procentgehalt der Lösung	Anzahl der Moleküle Cholalsäure auf 1000 Mol. Phenol
0.166	0.130	18.46	396	0.7	1.6
0.278	0.2165	16.24	449	1.2	2.8
0.296	0.2085	13.15	495	1.4	3.2 [1]
0.336	0.2405	13.15	509	1.7	4.2
0.434	0.3778	16.90	483	2.18	5.2
0.84	0.715	16.10	494	4.19	10.2
1.410	1.251	17.55	472	6.55	16
1.454	1.344	17.83	493	7	17.3

Tabelle II.

Cholalsäure in Eisessig, $C_{24}H_{40}O_5$, $M = 408$.

D	*P*	*L*	*M*	Procentgehalt der Lösung	Anzahl der Moleküle Cholalsäure auf 1000 Mol. Eisessig
0.55	0.8265	14.88	396	5.26	8
0.56	0.8832	16.5	372	5	7.7
0.27	0.4472	16.5	391	2.63	4

Das von mir verwendete Cholesterin wurde früher im hiesigen Laboratorium aus menschlichen Gallensteinen erhalten und die Reinheit des Präparates durch die Elementaranalyse festgestellt. Ich habe das Präparat vor dem Gebrauche noch einmal aus Alkohol umkrystallisirt und bei 100° getrocknet. Für Cholesterin eignet sich Eisessig als Lösungsmittel nicht, da schon eine geringe Menge Cholesterin, in Eisessig in der Hitze gelöst, noch bevor die Lösung erkaltet ist, zu einem Krystallbrei des essigsauren Cholesterins, $C_{26}H_{44}O . C_2H_4O_2$, erstarrt. Ich habe die Bestimmungen daher nur in Phenol ausgeführt, worin das Cholesterin leicht löslich ist.

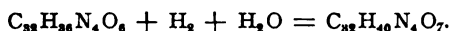
[1] Die eingeklammerten Werthe beziehen sich auf den gleichen Versuch, in welchem durch weiteren Zusatz von Substanz zu gleicher Lösung eine zweite Bestimmung ausgeführt wurde.

Tabelle III.

Cholesterin in Phenol, $C_{26}H_{43}OH$, $M = 372$.

D	P	L	M	Procent-gehalt der Lösung	Anzahl der Moleküle Cholesterin in 1000 Mol. Phenol
0.17	0.2558	33.33	343	0.76	2
0.37	0.3178	16.5	395.7	1.8	4.4
0.52	0.4181	16.5	370	2.47	5.8
0.37	0.3402	16.18	432	2	5.5
0.26	0.228	16.18	412	1.38	3.5
0.55	0.4644	16.25	394	2.78	7
0.642	0.6525	17.90	431	3.5	9
0.734	0.6944	16.95	433	3.93	12.5

Die Bestimmung des Molekulargewichtes des Bilirubins durch Nencki und Rotschy kann, wie schon Eingangs hervorgehoben, wegen der Zersetzlichkeit und Schwerlöslichkeit desselben nicht als entscheidend für die eine oder die andere Formel angesehen werden. Bekanntlich erhielt Maly durch Reduction des Bilirubins mittelst Natriumamalgam das Hydrobilirubin, identisch mit dem von Jaffé aus Harn erhaltenen Urobilin. Die gut stimmenden Analysen Maly's entsprechen der Formel $C_{32}H_{40}N_4O_7$. Und gerade die Zusammensetzung des Hydrobilirubins war für Maly eine Veranlassung, die Städeler'sche Formel des Bilirubins zu verdoppeln, da dann die Bildung des Reductionsproductes aus dem Bilirubin sich auf die einfachste Weise ergiebt:

$$C_{32}H_{36}N_4O_6 + H_2 + H_2O = C_{32}H_{40}N_4O_7.$$

Nun hat Hydrobilirubin die gute Eigenschaft, sich sowohl in Eisessig, wie in Phenol leicht zu lösen, und es war von hohem Interesse, zu sehen, ob dieser Farbstoff, dessen aus der Elementaranalyse abgeleitete Formel nicht theilbar ist, dem Raoult'schen Gesetze folgen würde. Auf die Bitte von Prof. Nencki hatte Herr Prof. Maly die grosse Freundlichkeit, das Hydrobilirubin rein darzustellen und mir etwas über 1.5 g zu übersenden. Das Präparat war zuletzt in Ammoniak gelöst und mit HCl gefällt. Ich habe es vor dem Gebrauch über H_2SO_4 im Vacuum bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Nach einigen Vorversuchen über die Löslichkeit des Farbstoffes habe ich folgende Bestimmungen in Phenol ausgeführt.

Hydrobilirubin, $C_{32}H_{40}N_4O_7$, $M = 592$.

D	P	L	M gefunden	Procent-gehalt der Lösung	Anzahl der Mol. Hydrobilirubin auf 1000 Mol. Phenol
0.20	0.212	16.77	480	1.2	2
0.42	0.4117	18.14	410	2.2	3.5
0.65	0.6208	13.26	550	4.4	7.4

Aus den mit Cholesterin und Cholalsäure erhaltenen Zahlen geht zunächst hervor, dass das Molekulargewicht dieser beiden Körper der einfachen Formel ent-

spricht. Sodann zeigen meine Versuche, dass sehr verdünnte Lösungen in Phenol ganz abweichende Zahlen ergeben. So wurde für die Cholalsäure bei einer 0.7 proc. Lösung und einer Depression von 0.166° $M = 395$ statt 502 gefunden. Erst eine 1 proc. Lösung ergab einen dem richtigen Molekulargewichte nahestehenden Werth. Noch auffallender ist dies bei Hydrobilirubin, wo selbst eine 2.2 proc. Lösung und eine Depression von 0.42° eine viel zu niedrige Zahl ergab. Erst als ich fast gesättigte Lösungen des Farbstoffes in Phenol anwendete, erhielt ich der Formel $C_{32}H_{40}N_4O_7$ naheliegende Zahlen. Nencki und Rotschy haben allerdings ebenfalls fast gesättigte Lösungen des Bilirubins in Phenol angewendet und dabei für diesen Farbstoff Werthe erhalten, welche ziemlich der einfachen Formel entsprechen. Ein weiterer Unterschied zwischen der Cholalsäure und dem Cholesterin besteht darin, dass, während das letztere bei wachsender Concentration höhere Zahlen für das Molekulargewicht ergiebt, die Cholalsäure selbst bei einer Concentration von 15 bis 20 Molekülen auf 1000 Moleküle Phenol und dementsprechend einer Depression von 0.8 bis 2° stets um ein Geringes kleinere Zahlen als wie das theoretisch berechnete Molekulargewicht ergiebt.

So wichtig und einfach die Raoult'sche Methode zur Bestimmung des Molekulargewichtes selbst complicirt zusammengesetzter, nicht flüchtiger Substanzen ist, so kann sie doch nur verwendet werden, um zu entscheiden, ob die aus der Elementaranalyse hervorgehende einfachste Formel oder ein Multiplum desselben dem wahren Molekulargewichte der betreffenden Verbindung entspricht. Bei Substanzen von hohem molekularem Gewichte, wo plus oder minus H_2, CH_2 oder H_2O nur wenig die procentische Zusammensetzung beeinflusst, wird man durch die Raoult'sche Methode wegen der weiten Fehlergrenzen keine definitive Aufklärung erhalten, wie dies übrigens auch schon von anderen Experimentatoren hervorgehoben worden ist. So hat z. B. Latschinow, wie schon erwähnt, die Formel $C_{25}H_{42}O_5$ für die Cholalsäure statt der von Strecker ermittelten und auch von anderen Chemikern, die die Gallensäuren untersuchten, adoptirten Formel $C_{24}H_{40}O_5$ aufgestellt. Die von mir erhaltenen Zahlen, sowohl in Eisessig wie in Phenol, stehen näher der Strecker'schen Formel. Es wäre jedoch unzulässig, einzig auf Grund dieser Bestimmungen die Latschinow'sche Formel zu verwerfen. Die Raoult'sche Methode wird in der Zukunft immer mehr angewendet. Es ist jedoch nöthig, sich dabei nicht auf ein einziges Lösungsmittel zu beschränken, sondern wo möglich mehrere zu verwenden. Man muss sich auch stets vergegenwärtigen, dass der Raoult'sche Werth T bei einem und demselben Lösungsmittel für verschiedene Körperclassen nicht immer denselben Werth hat und dass die Concentration der Lösungen stets berücksichtigt werden muss.

Der Werth T, d. h. die „molekulare Depression", kann, wie van 't Hoff gezeigt hat, aus der latenten Schmelzwärme und der absoluten Schmelztemperatur abgeleitet werden. Will man für eine Classe von Verbindungen den Werth T empirisch bestimmen, so verfährt man am besten nach den Angaben von Raoult, indem man sich eine Curve anlegt, auf deren Abscissen die Depressionen, auf deren Ordinaten die Werthe für den Erniedrigungscoëfficienten — den Werth A in der Raoult'schen Formel — aufgetragen werden.

Zur Frage über die Constitution des Carbonyl-o-Amidophenols

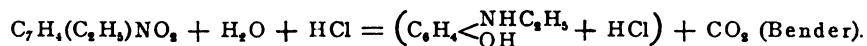
von

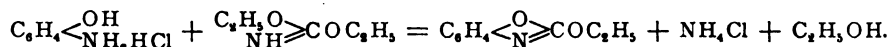
O. Gressly und **M. Nencki.**

Monatsh. f. Chem. **11**, 253.

Dieser Körper, auch Oxycarbamidophenol[1]), Oxymethenylamidophenol[2]) genannt, wurde zuerst von E. Grönvik[3]) durch Destillation von Oxyphenylurethan, $CO<^{NHC_6H_4OH}_{OC_2H_5}$, dargestellt und unter dem Namen o-Oxycarbanil beschrieben. Man kann ihn leicht erhalten durch Zusammenschmelzen von salzsaurem o-Amidophenol mit Harnstoff bis zum Aufhören der Ammoniakentwickelung und Umkrystallisiren der Schmelze aus angesäuertem Wasser oder noch besser nach der Vorschrift von R. Schmitt durch Einwirkung von Phosgengas auf trockenes, in Benzol oder Chloroform gelöstes Amidophenol.

Wird das Carbonyl-o-Amidophenol mit der äquivalenten Menge Kali in alkoholischer Lösung mit Jodäthyl einige Zeit am Rückflusskühler gekocht, so fällt durch Wasserzusatz der Aethylester von der Zusammensetzung $C_6H_4<^{NC_2H_5}_{O}>CO$ anfangs als Oel, das in der Kälte krystallinisch erstarrt, aus. Schmelzpunkt 29°. Bei 100° im Rohr mit concentrirter Salzsäure erhitzt, bleibt dieser Ester unverändert, bei 180° dagegen geht er unter Aufnahme von Wasser glatt in Kohlensäure und das Chlorhydrat des Aethyl-o-Amidophenols über, entsprechend der Gleichung:

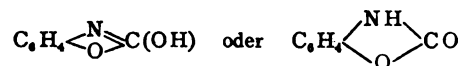
$$C_7H_4(C_2H_5)NO_2 + H_2O + HCl = \left(C_6H_4<^{NHC_2H_5}_{OH} + HCl\right) + CO_2 \text{ (Bender).}$$

Durch Einwirkung von Imidokohlensäureester auf salzsaures o-Amidophenol erhielt Sandmeyer einen dem oben beschriebenen isomeren Ester nach der Gleichung:

$$C_6H_4<^{OH}_{NH_2HCl} + {}^{C_2H_5O}_{NH}\!\!>COC_2H_5 = C_6H_4<^{O}_{N}\!\!>COC_2H_5 + NH_4Cl + C_2H_5OH.$$

Der Ester $C_6H_4<^{O}_{N}>COC_2H_5$ ist ein eigenthümlich riechendes, bei 225 bis 230° siedendes Oel. Uebergiesst man es mit etwa dem gleichen Volumen concentrirter Salzsäure, so entweichen bei geringem Erwärmen Ströme von Chloräthyl und nach dem Erkalten erstarrt die Flüssigkeit zu einem Brei von Krystallnadeln des Carbonyl-o-Amidophenols, Schmelzpunkt 137°.

Das Carbonyl-o-Amidophenol bildet also zwei isomere Aether analog dem Carbostyril und dem Isatin, von welchen auch zwei isomere Aether existiren, in denen das Aethyl einmal am Stickstoff, das andere Mal am Sauerstoff sitzt.

[1]) Kalckhoff, Ber. **16**, 1828.
[2]) Sandmeyer, Ber. **19**, 2655.
[3]) Bull. soc. chim. 1876, **25**, 177.

Welche von den beiden möglichen Constitutionsformeln, nämlich

$$C_6H_4{<}{}^{N}_{O}{>}C(OH) \quad \text{oder} \quad C_6H_4{<}{}^{NH}_{O}{>}CO$$

der wahren Zusammensetzung des Carbonyl-o-Amidophenols entspricht, lässt sich, wie Bender[1]) glaubt, nicht entscheiden; denn wenn die glatte Entstehung aus dem Lactimäther für die Lactimform spricht, so liegt doch in der Entstehung einer Phenylhydrazinverbindung ein ebenso starkes Argument für die Lactamformel.

Die von Kalckhoff aufgestellte Lactimformel wurde von Sandmeyer bevorzugt. Für die Lactamformel von Bender trat neuerdings ein Schüler R. Schmitt's, St. v. Chelmicki[2]) auf, welcher, beiläufig gesagt, für das dem Carbonylamidophenol analoge Thiocarbamidophenol die mercaptanartige Formel $C_6H_4{<}{}^{N}_{O}{>}C(SH)$ bewiesen hat.

Bei den vielfachen Anregungen, welche die medicinische Chemie von der reinen erfährt, hielten wir es für wünschenswerth, die nicht gerade häufige Gelegenheit zu benutzen, einmal der reinen Chemie einen Freundschaftsdienst zu erweisen und auf physiologischem Wege einen Beweis zu Gunsten der einen oder der anderen Formel zu bringen.

Durch die schönen Untersuchungen von Jaffé und Hilbert[3]), sowie Mörner[4]) über das Verhalten des Acetanilids (Antifebrin) im Organismus wissen wir darüber Folgendes:

Die Umwandlung des Acetanilids ist bei Herbivoren und Carnivoren verschieden. a) Bei Kaninchen wird es unter vollständiger Eliminirung der Acetylgruppe zu Paramidophenol oxydirt. b) Bei Hunden dagegen geht nur ein kleiner Theil in Paramidophenol über. Der Hauptsache nach geschieht die Umsetzung derart, dass unter gleichzeitiger Oxydation des Anilinrestes zu Orthoamidophenol und der Acetylgruppe zu COOH, zunächst eine Verbindung entsteht von der Zusammensetzung:

$$C_6H_4 \begin{matrix}(1)HN.COOH \\ (2)OH\end{matrix}$$

Oxyphenylcarbaminsäure

welche allerdings in freiem Zustande aus dem Harne nicht isolirt worden ist, da sie höchst wahrscheinlich in freiem Zustande nicht beständig, unter Abspaltung von Wasser sofort in ihr Anhydrid — das Carbonylamidophenol (Orthoxycarbanil) — übergeht. Das letztere lässt sich aus den mit Salzsäure erhitzten Harnextracten in grossen Mengen isoliren. Das Paramidophenol und die Oxyphenylcarbaminsäure werden bei Kaninchen und Hunden in Form ihrer Aetherschwefelsäuren: $C_6H_4 \begin{matrix}.NH_2 \\ .O.SO_3H\end{matrix}$ und $C_6H_4 \begin{matrix}.NH.CO_2H \\ .O.SO_3H\end{matrix}$ oder mit Glycuronsäure gepaart ausgeschieden (Jaffé und Hilbert). c) Nach Einführen von Acetanilid in

[1]) Ber. **19**, 2951.
[2]) Ebenda **20**, 177.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, 295.
[4]) Ebenda **13**, 12.

den menschlichen Körper wird ein Theil des Mittels zu Acetylparamidophenol, $C_6H_4 \genfrac{}{}{0pt}{}{.NH.COCH_3}{.OH}$, oxydirt und ebenfalls als Aetherschwefelsäure ausgeschieden (Mörner).

Bekanntlich werden aromatische Substanzen, wenn sie eine Carboxylgruppe enthalten, aus dem Thierkörper entweder unverändert oder mit Glycocoll gepaart ausgeschieden. Die Homologen des Benzols, aromatische Alkohole, Aldehyde und Säuren werden in der Seitenkette oxydirt und ebenfalls als Carbonsäuren ausgeschieden. Hydroxylirte Verbindungen, zumal wenn sie kein Carboxyl enthalten, also namentlich Phenole, verlassen den Organismus, sei es als Aetherschwefelsäuren oder Paarlinge der Glycuronsäure. Enthält ein Körper weder Carboxyl noch Hydroxyl und findet keine Oxydation der Seitenkette statt, so wird ein Wasserstoff im Benzolkern hydroxylirt, z. B. Benzol wird im Organismus zu Phenol, Indol zu Indoxyl [$C_8H_6N(OH)$], Campher $C_{10}H_{16}O$ zu Campherol $C_{10}H_{15}O(OH)$ oxydirt. Es war daher zu erwarten, dass, wenn dem Carbonyl-o-Amidophenol die Formel $C_6H_4 <_{O}^{N}> C(OH)$ zukommt, dasselbe, weil ein Hydroxyl vorhanden, im Organismus nicht weiter oxydirt, sondern mit Schwefelsäure oder Glycuronsäure gepaart ausgeschieden werde. Ist dagegen die Formel von Bender und Chelmicki $\left(C_6H_4 <_{O}^{NH}> CO\right)$ die richtige, so muss ein Wasserstoff im Benzolkern hydroxylirt werden, und es war zu erwarten, dass nach Eingabe des Carbonyl-o-Amidophenols eine Verbindung von der Zusammensetzung $C_6(OH)H_3 <_{O}^{NH}> CO$ im Organismus entstehen wird.

Die an Kaninchen und Hunden angestellten Versuche haben zu Gunsten der Formel von Bender und Chelmicki entschieden.

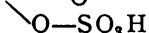
Carbonyl-o-Amidophenol hat eine starke toxische Wirkung. Es sollen an einem anderen Orte unsere Versuche hierüber ausführlich beschrieben werden. Bei Kaninchen durften tägliche Dosen von 1 g, die wir ihnen in Portionen von 0.2 bis 0.3 g im Laufe des Tages in den Magen injicirten, nicht überschritten werden. Ein mittelgrosser Hund von 12 kg Körpergewicht vertrug 2 bis 3 g pro die, ebenfalls in refracta dosi. Nachdem wir etwa 6 g des reinen, bei 137° schmelzenden Carbonyl-o-Amidophenols[1]) an Kaninchen und eine eben solche Menge an den Hund verfüttert hatten, wurde der jedesmal frisch zum Syrup eingedampfte Harn vereint mit so viel reiner Salzsäure versetzt, dass die Flüssigkeit 10 Proc. HCl enthielt und etwa eine Stunde am Rückflusskühler auf dem Sandbade gekocht. Dieses Verfahren bezweckte nach dem Vorgange von Jaffé und Hilbert die Spaltung der Aetherschwefelsäure, respective Glycuronsäureverbindung des Carbonylamidophenols oder des etwa entstandenen Oxydationsproductes. Nach dem Erkalten wurde die salzsaure Lösung mit Aether ausgeschüttelt, der Rückstand nach Trennung der Aether-

[1]) Ich verdanke dieses Präparat, sowie auch das Meta- und Paracarbonylamidophenol der Liebenswürdigkeit meines Freundes Dr. C. Kolbe, Inhaber der Salicylsäurefabrik in Radebeul bei Dresden.

schicht mit Alkali übersättigt und von Neuem mit Aether extrahirt. Wir erhielten so zwei Aetherauszüge aus saurem und alkalischem Harn. Beide Extracte hinterliessen nach Abdestilliren des Aethers eine und dieselbe Substanz mit dem Unterschiede, dass aus der alkalischen Lösung durch Aether nur noch wenig davon aufgenommen wurde. Der Körper hatte folgende Eigenschaften:

Nach Abdestilliren des Aethers hinterbleibt er in gelblichen, an der Wand haftenden Krystallkrusten. In kaltem Wasser ist er kaum löslich, leichter in kochendem und wird zweckmässig durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt, wobei er sich beim Erkalten als feines Krystallpulver absetzt, das unter dem Mikroskope aus Aggregaten kleiner, spitzer, rhombischer Prismen besteht. In Alkohol und wässerigen Alkalien ist er leicht löslich, aus letzterer Lösung wird er durch Säuren gefällt. In Aether ist er weniger löslich. In concentrirter Schwefelsäure löst er sich ohne Veränderung und wird durch Wasserzusatz daraus gefällt. Im Capillarröhrchen erhitzt, schmilzt er nicht, beginnt aber bei 250° sich zu bräunen und ist bei etwa 265° unter Schwärzung völlig zersetzt. Sehr charakteristisch ist das Verhalten dieser Substanz gegen wässerige Chlorkalklösung oder Millon'sches Reagens. Neutrale wässerige oder alkoholische Lösungen des Körpers geben mit Chlorkalk eine schöne rothe, mit Millon'schem Reagens eine purpurrothe Färbung, wobei nach kurzer Zeit sich ein rother Niederschlag bildet. Beide Reactionen sind sehr empfindlich und treten schon in der Kälte ein, weshalb auch Harn nach Eingabe von Carbonyl-o-Amidophenol diese Farbenreaction ebenfalls zeigt. Eisenchlorid färbt die wässerige Lösung der Substanz anfangs grünlich. Die Farbe wird aber bald schmutzigbraun und nach kurzer Zeit setzt sich ein brauner Niederschlag ab. Alle diese Farbenreactionen bleiben aus bei Gegenwart von Mineralsäuren.

Wie die Elementaranalysen ergaben, ist der Körper nach der Formel $C_7H_5NO_3$ zusammengesetzt und durch Hydroxylirung des verfütterten Carbonyl-o-Amidophenols entstanden, weshalb wir ihn Carbonylorthoxyamidophenol nennen wollen. Es ist auch leicht einzusehen, warum wir von den vielen Bezeichnungen für den verfütterten Körper den Namen Carbonyl-o-Amidophenol vorgezogen haben.

Das Carbonyl-o-Oxyamidophenol wird vom Thierkörper hauptsächlich als Aetherschwefelsäure, $C_6H_3{<}^{NH}_{O}{>}CO$ (mit $\diagdown O{-}SO_3H$) ausgeschieden. So enthielt der Kaninchenharn nach Eingabe des Carbonyl-o-Amidophenols in 100 ccm nur 0.0018 g SO_4H_2 der Salze und 0.1940 g Aetherschwefelsäure. Ein geringer Theil geht vielleicht als Glycuronsäurepaarling über, da der Harn, wenn auch wenig, so doch deutlich nach Kochen mit Salzsäure Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirte. Unverändertes Carbonyl-o-Amidophenol haben wir weder im Hunde- noch im Kaninchenharn auffinden können, auch dann nicht, als wir versuchsweise den eingedampften Harn in der Kälte mit etwas HCl ansäuerten und mit Aether extrahirten. Der abdestillirte Aether hinterliess nur minimale Mengen eines harzigen Rückstandes.

Nachdem der Körper durch qualitative Proben als schwefel- und chlorfrei sich erwies, wurde behufs der Elementaranalyse das aus Aether abgeschiedene und mit

kaltem Wasser gut ausgewaschene Product zweimal aus heissem Wasser, das erste Mal unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt. Der Körper krystallisirt wasserfrei. Die lufttrockene Substanz verliert über SO_4H_2 oder bei 110° nichts mehr an Gewicht.

0.189 g der so aus Kaninchenharn erhaltenen Substanz gaben 0.3826 g CO_2 und 0.0624 g H_2O oder 55.20 Proc. C und 3.66 Proc. H.

0.1969 g des gleichen Präparates gaben bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung im Zulkowski'schen Apparate 17.3 ccm N-Gas bei 18.2° und 714 mm Bst., entsprechend 9.55 Proc. N.

0.2318 g der auf gleiche Weise aus Hundeharn dargestellten Substanz gaben 0.4698 g CO_2 und 0.0776 g H_2O oder 55.27 Proc. C und 3.71 Proc. H.

	Versuch:			Die Formel $C_7H_5NO_3$ verlangt:	
C	55.20 Proc.	und	55.27 Proc.	C	55.62 Proc.
H	3.66 „	„	3.71 „	H	3.31 „
N	9.55 „			N	9.27 „

Zu bemerken wäre noch, dass die Ausbeute an Carbonyl-o-Oxyamidophenol aus dem Kaninchenharn relativ eine grössere war. Der Grund hiervon liegt vielleicht darin, dass von den Kaninchen dieser Körper fast nur als Aetherschwefelsäure ausgeschieden wird, während im Hundeorganismus mehr die Glycuronsäureverbindung gebildet wird. Wenigstens reducirte der Hundeharn stärker alkalische Kupferlösung als wie der des Kaninchens, und es ist bekannt, dass die Paarlinge der Glycuronsäure durch Mineralsäuren schwieriger zerlegt werden als wie die Aetherschwefelsäuren. Nach Fütterung von Thieren mit Meta- und Paracarbonylamidophenol, die bei Weitem nicht so giftig wie die Orthoverbindung sind, haben wir bei gleicher Behandlung des Harns aus den Aetherextracten neben wenig Harz nur Spuren von Krystallen erhalten. Die Versuche hierüber sind jedoch nicht abgeschlossen, und wir werden auch auf chemischem Wege die Constitution der beiden Isomeren zu ermitteln suchen.

Bemerkungen über die thierischen Melanine und das Hämosiderin

von

John J. Abel.

Virchow's Archiv 120, 204. — Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. 20, 431.

Die Farbstoffe des thierischen und speciell des menschlichen Organismus lassen sich in zwei Gruppen eintheilen, in die Blutfarbstoffe und ihre Abkömmlinge (Bilirubin u. s. w.) und in die Gewebsfarbstoffe, wozu das Pigment der Haut und der Haare, der Iris, der Choroidea, der Pia mater u. s. w. gehören. Während aus dem Blutfarbstoffe durch künstliche Mittel Hämatoporphyrin entsteht, wird dasselbe normaler

Weise in der Leber oder pathologischer Weise in den Blutextravasaten in Bilirubin verwandelt, das mit dem Hämatoporphyrin isomer ist. Unsere Kenntnisse über die Gewebsfarbstoffe sind viel dürftiger. In jüngster Zeit sind solche von Sieber, Nencki und Berdez, Mörner, Hirschfeld und Neumann dargestellt und untersucht worden. Beim Austritt von Blut in das Gewebe wird das Hämoglobin in Eiweiss und Bilirubin gespalten, welche beide eisenfrei sind; dabei treten noch braunschwarze bis schwarze, auch farblose Körner auf, welche durch Salzsäure und Ferrocyankalium blaugefärbt werden und deshalb immer als „eisenhaltiges Pigment", „eisenhaltige Melanine", angesprochen werden. Dies ist aber unrichtig, da wirklich eisenhaltige Pigmente, wie das Hämoglobin, das Eisen durch genannte Reagentien nicht erkennen lassen. Der von Neumann eingeführte Name „Hämosiderin", der alle Körper bezeichnet, die Eisenreactionen geben, kann zu Missverständnissen Veranlassung geben. Körper, welche mit Salzsäure und Ferrocyankalium Berlinerblau geben, sind entweder Eisenoxydsalze oder Eisenalbuminate. Verf. hat derartige Verbindungen dargestellt und gefunden, dass sich ihnen das Eisen durch Salzsäure grösstentheils entziehen lässt. Ueber die chemische Zusammensetzung der schwarzen Körner der Extravasate sind die Ansichten der Autoren verschieden. Nach Perls enthalten dieselben das Eisen im Oxydul- und Oxydzustande; Verf. weist darauf hin, dass sich dies durch die gebräuchlichen Reagentien nicht entscheiden lasse. Denn das zum Nachweise des Oxyduls benutzte rothe Blutlaugensalz wird durch die organischen Gewebe sehr rasch zu Ferrocyankalium reducirt, so dass auch bei vorhandenem Eisenoxyd damit eine Reaction auf Eisenoxydul erhalten wird. Ausser Eiweissstoffen geben auch die thierischen Kohlehydrate, Glycogen und Thiergummi in alkalischer Lösung mit Eisenoxydsalzen rothbraune eisenhaltige Niederschläge, aus denen sich das Eisen nicht vollständig entfernen lässt. Es geht eben so wenig in anderen ähnlichen Fällen an, von einem eisenhaltigen Pigmente wie hier von einer Eisenverbindung zu sprechen.

Ueber das Vorkommen von Methylmercaptan im menschlichen Harn nach Spargelgenuss

von

M. Nencki.

Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **28**, 206. — Gazeta Lekarska No. 2 (1891).

Seitdem ich gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) das Methylmercaptan bei der anaërobiotischen Gährung des Eiweisses aufgefunden habe, sind wir wiederholt diesem Gase[2]) bei unseren Untersuchungen begegnet. Aus Eiweiss wird Methyl-

[1]) Wien. Monatsh. f. Chem. **10**, 526. — Dieser Band S. 113.

[2]) Reines, nach der Vorschrift von Peter Klason (Ber. **20**, 3407) dargestelltes Methylmercaptan siedet schon bei 5·8° bei 752 mm Bst. und ist somit bei gewöhnlicher

kaltem Wasser gut ausgewaschene Product zweimal aus heissem Wasser, das erste Mal unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt. Der Körper krystallisirt wasserfrei. Die lufttrockene Substanz verliert über SO_4H_2 oder bei 110° nichts mehr an Gewicht.

0.189 g der so aus Kaninchenharn erhaltenen Substanz gaben 0.3826 g CO_2 und 0.0624 g H_2O oder 55.20 Proc. C und 3.66 Proc. H.

0.1969 g des gleichen Präparates gaben bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung im Zulkowski'schen Apparate 17.3 ccm N-Gas bei 18.2° und 714 mm Bst., entsprechend 9.55 Proc. N.

0.2318 g der auf gleiche Weise aus Hundeharn dargestellten Substanz gaben 0.4698 g CO_2 und 0.0776 g H_2O oder 55.27 Proc. C und 3.71 Proc. H.

	Versuch:			Die Formel $C_7H_5NO_3$ verlangt:	
C	55.20 Proc.	und 55.27 Proc.		C	55.62 Proc.
H	3.66 „	„ 3.71 „		H	3.31 „
N	9.55 „			N	9.27 „

Zu bemerken wäre noch, dass die Ausbeute an Carbonyl-o-Oxyamidophenol aus dem Kaninchenharn relativ eine grössere war. Der Grund hiervon liegt vielleicht darin, dass von den Kaninchen dieser Körper fast nur als Aetherschwefelsäure ausgeschieden wird, während im Hundeorganismus mehr die Glycuronsäureverbindung gebildet wird. Wenigstens reducirte der Hundeharn stärker alkalische Kupferlösung als wie der des Kaninchens, und es ist bekannt, dass die Paarlinge der Glycuronsäure durch Mineralsäuren schwieriger zerlegt werden als wie die Aetherschwefelsäuren. Nach Fütterung von Thieren mit Meta- und Paracarbonylamidophenol, die bei Weitem nicht so giftig wie die Orthoverbindung sind, haben wir bei gleicher Behandlung des Harns aus den Aetherextracten neben wenig Harz nur Spuren von Krystallen erhalten. Die Versuche hierüber sind jedoch nicht abgeschlossen, und wir werden auch auf chemischem Wege die Constitution der beiden Isomeren zu ermitteln suchen.

Bemerkungen über die thierischen Melanine und das Hämosiderin

von

John J. Abel.

Virchow's Archiv **120**, 204. — Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **20**, 431.

Die Farbstoffe des thierischen und speciell des menschlichen Organismus lassen sich in zwei Gruppen eintheilen, in die Blutfarbstoffe und ihre Abkömmlinge (Bilirubin u. s. w.) und in die Gewebsfarbstoffe, wozu das Pigment der Haut und der Haare, der Iris, der Choroidea, der Pia mater u. s. w. gehören. Während aus dem Blutfarbstoffe durch künstliche Mittel Hämatoporphyrin entsteht, wird dasselbe normaler

:ise in der Leber oder pathologischer Weise in den Blutextravasaten in Bilirubin wandelt, das mit dem Hämatoporphyrin isomer ist. Unsere Kenntnisse über die vebsfarbstoffe sind viel dürftiger. In jüngster Zeit sind solche von Sieber, ncki und Berdez, Mörner, Hirschfeld und Neumann dargestellt und ersucht worden. Beim Austritt von Blut in das Gewebe wird das Hämoglobin Eiweiss und Bilirubin gespalten, welche beide eisenfrei sind; dabei treten noch unschwarze bis schwarze, auch farblose Körner auf, welche durch Salzsäure und rocyankalium blaugefärbt werden und deshalb immer als „eisenhaltiges Pigment", enhaltige Melanine", angesprochen werden. Dies ist aber unrichtig, da wirklich nhaltige Pigmente, wie das Hämoglobin, das Eisen durch genannte Reagentien ıt erkennen lassen. Der von Neumann eingeführte Name „Hämosiderin", der Körper bezeichnet, die Eisenreactionen geben, kann zu Missverständnissen Verıssung geben. Körper, welche mit Salzsäure und Ferrocyankalium Berlinerblau en, sind entweder Eisenoxydsalze oder Eisenalbuminate. Verf. hat derartige Verlungen dargestellt und gefunden, dass sich ihnen das Eisen durch Salzsäure sstentheils entziehen lässt. Ueber die chemische Zusammensetzung der schwarzen ner der Extravasate sind die Ansichten der Autoren verschieden. Nach Perls ıalten dieselben das Eisen im Oxydul- und Oxydzustande; Verf. weist darauf hin, s sich dies durch die gebräuchlichen Reagentien nicht entscheiden lasse. Denn zum Nachweise des Oxyduls benutzte rothe Blutlaugensalz wird durch die orgachen Gewebe sehr rasch zu Ferrocyankalium reducirt, so dass auch bei vorhanem Eisenoxyd damit eine Reaction auf Eisenoxydul erhalten wird. Ausser eissstoffen geben auch die thierischen Kohlehydrate, Glycogen und Thiergummi alkalischer Lösung mit Eisenoxydsalzen rothbraune eisenhaltige Niederschläge, denen sich das Eisen nicht vollständig entfernen lässt. Es geht eben so wenig anderen ähnlichen Fällen an, von einem eisenhaltigen Pigmente wie hier von er Eisenverbindung zu sprechen.

---

ber das Vorkommen von Methylmercaptan im menschlichen Harn nach Spargelgenuss

von

M. Nencki.

Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **28**, 206. — Gazeta Lekarska No. 2 (1891).

Seitdem ich gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) das Methylmercaptan bei der ıërobiotischen Gährung des Eiweisses aufgefunden habe, sind wir wiederholt sem Gase[2]) bei unseren Untersuchungen begegnet. Aus Eiweiss wird Methyl-

---

[1]) Wien. Monatsh. f. Chem. **10**, 526. — Dieser Band S. 113.

[2]) Reines, nach der Vorschrift von Peter Klason (Ber. **20**, 3407) dargestelltes Methylrcaptan siedet schon bei 5·8° bei 752 mm Bst. und ist somit bei gewöhnlicher

kaltem Wasser gut ausgewaschene Product zweimal aus heissem Wasser, das er
Mal unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt. Der Körper krystallisirt wasserf
Die lufttrockene Substanz verliert über SO_4H_2 oder bei 110° nichts mehr
Gewicht.

0.189 g der so aus Kaninchenharn erhaltenen Substanz gaben 0.3826 g C
und 0.0624 g H_2O oder 55.20 Proc. C und 3.66 Proc. H.

0.1969 g des gleichen Präparates gaben bei der volumetrischen Stickstc
bestimmung im Zulkowski'schen Apparate 17.3 ccm N-Gas bei 18.2° und 714 n
Bst., entsprechend 9.55 Proc. N.

0.2318 g der auf gleiche Weise aus Hundeharn dargestellten Substanz gat
0.4698 g CO_2 und 0.0776 g H_2O oder 55.27 Proc. C und 3.71 Proc. H.

	Versuch:			Die Formel $C_7H_5NO_3$ verlangt:	
C	55.20 Proc.	und 55.27 Proc.		C	55.62 Proc.
H	3.66 „	„ 3.71 „		H	3.31 „
N	9.55 „			N	9.27 „

Zu bemerken wäre noch, dass die Ausbeute an Carbonyl-o-Oxyamidophe
aus dem Kaninchenharn relativ eine grössere war. Der Grund hiervon liegt v
leicht darin, dass von den Kaninchen dieser Körper fast nur als Aetherschwefelsä
ausgeschieden wird, während im Hundeorganismus mehr die Glycuronsäu
verbindung gebildet wird. Wenigstens reducirte der Hundeharn stärker alkalis
Kupferlösung als wie der des Kaninchens, und es ist bekannt, dass die Paarlinge
Glycuronsäure durch Mineralsäuren schwieriger zerlegt werden als wie die Aeth
schwefelsäuren. Nach Fütterung von Thieren mit Meta- und Paracarbonylami
phenol, die bei Weitem nicht so giftig wie die Orthoverbindung sind, haben wir
gleicher Behandlung des Harns aus den Aetherextracten neben wenig Harz
Spuren von Krystallen erhalten. Die Versuche hierüber sind jedoch nicht
geschlossen, und wir werden auch auf chemischem Wege die Constitution der bei
Isomeren zu ermitteln suchen.

Bemerkungen über die thierischen Melanine und das Hämosiderin

von

John J. Abel.

Virchow's Archiv **120**, 204. — Nach dem Referate
Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **20**.

Die Farbstoffe des thierischen und speciell des menschlichen Organismus las
sich in zwei Gruppen eintheilen, in die Blutfarbstoffe und ihre Abkömmlinge (B
rubin u. s. w.) und in die Gewebsfarbstoffe, wozu das Pigment der Haut und der Haa
der Iris, der Choroidea, der Pia mater u. s. w. gehören. Während aus dem Bl
farbstoffe durch künstliche Mittel Hämatoporphyrin entsteht, wird dasselbe norma

Weise in der Leber oder pathologischer Weise in den Blutextravasaten in Bilirubin verwandelt, das mit dem Hämatoporphyrin isomer ist. Unsere Kenntnisse über die Gewebsfarbstoffe sind viel dürftiger. In jüngster Zeit sind solche von Sieber, Nencki und Berdez, Mörner, Hirschfeld und Neumann dargestellt und untersucht worden. Beim Austritt von Blut in das Gewebe wird das Hämoglobin in Eiweiss und Bilirubin gespalten, welche beide eisenfrei sind; dabei treten noch braunschwarze bis schwarze, auch farblose Körner auf, welche durch Salzsäure und Ferrocyankalium blaugefärbt werden und deshalb immer als „eisenhaltiges Pigment", „eisenhaltige Melanine", angesprochen werden. Dies ist aber unrichtig, da wirklich eisenhaltige Pigmente, wie das Hämoglobin, das Eisen durch genannte Reagentien nicht erkennen lassen. Der von Neumann eingeführte Name „Hämosiderin", der alle Körper bezeichnet, die Eisenreactionen geben, kann zu Missverständnissen Veranlassung geben. Körper, welche mit Salzsäure und Ferrocyankalium Berlinerblau geben, sind entweder Eisenoxydsalze oder Eisenalbuminate. Verf. hat derartige Verbindungen dargestellt und gefunden, dass sich ihnen das Eisen durch Salzsäure grösstentheils entziehen lässt. Ueber die chemische Zusammensetzung der schwarzen Körner der Extravasate sind die Ansichten der Autoren verschieden. Nach Perls enthalten dieselben das Eisen im Oxydul- und Oxydzustande; Verf. weist darauf hin, dass sich dies durch die gebräuchlichen Reagentien nicht entscheiden lasse. Denn das zum Nachweise des Oxyduls benutzte rothe Blutlaugensalz wird durch die organischen Gewebe sehr rasch zu Ferrocyankalium reducirt, so dass auch bei vorhandenem Eisenoxyd damit eine Reaction auf Eisenoxydul erhalten wird. Ausser Eiweissstoffen geben auch die thierischen Kohlehydrate, Glycogen und Thiergummi in alkalischer Lösung mit Eisenoxydsalzen rothbraune eisenhaltige Niederschläge, aus denen sich das Eisen nicht vollständig entfernen lässt. Es geht eben so wenig in anderen ähnlichen Fällen an, von einem eisenhaltigen Pigmente wie hier von einer Eisenverbindung zu sprechen.

Ueber das Vorkommen von Methylmercaptan im menschlichen Harn nach Spargelgenuss

von

M. Nencki.

Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **28**, 206. — Gazeta Lekarska No. 2 (1891).

Seitdem ich gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) das Methylmercaptan bei der anaërobiotischen Gährung des Eiweisses aufgefunden habe, sind wir wiederholt diesem Gase[2]) bei unseren Untersuchungen begegnet. Aus Eiweiss wird Methyl-

[1]) Wien. Monatsh. f. Chem. **10**, 526. — Dieser Band S. 113.

[2]) Reines, nach der Vorschrift von Peter Klason (Ber. **20**, 3407) dargestelltes Methylmercaptan siedet schon bei 5·8° bei 752 mm Bst. und ist somit bei gewöhnlicher

kaltem Wasser gut ausgewaschene Product zweimal aus heissem Wasser, das erste Mal unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt. Der Körper krystallisirt wasserfrei. Die lufttrockene Substanz verliert über SO_4H_2 oder bei 110° nichts mehr an Gewicht.

0.189 g der so aus Kaninchenharn erhaltenen Substanz gaben 0.3826 g CO_2 und 0.0624 g H_2O oder 55.20 Proc. C und 3.66 Proc. H.

0.1969 g des gleichen Präparates gaben bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung im Zulkowski'schen Apparate 17.3 ccm N-Gas bei 18.2° und 714 mm Bst., entsprechend 9.55 Proc. N.

0.2318 g der auf gleiche Weise aus Hundeharn dargestellten Substanz gaben 0.4698 g CO_2 und 0.0776 g H_2O oder 55.27 Proc. C und 3.71 Proc. H.

	Versuch:		Die Formel $C_7H_5NO_2$ verlangt:
C	55.20 Proc. und 55.27 Proc.	C	55.62 Proc.
H	3.66 „ „ 3.71 „	H	3.31 „
N	9.55 „	N	9.27 „

Zu bemerken wäre noch, dass die Ausbeute an Carbonyl-o-Oxyamidophenol aus dem Kaninchenharn relativ eine grössere war. Der Grund hiervon liegt vielleicht darin, dass von den Kaninchen dieser Körper fast nur als Aetherschwefelsäure ausgeschieden wird, während im Hundeorganismus mehr die Glycuronsäureverbindung gebildet wird. Wenigstens reducirte der Hundeharn stärker alkalische Kupferlösung als wie der des Kaninchens, und es ist bekannt, dass die Paarlinge der Glycuronsäure durch Mineralsäuren schwieriger zerlegt werden als wie die Aetherschwefelsäuren. Nach Fütterung von Thieren mit Meta- und Paracarbonylamidophenol, die bei Weitem nicht so giftig wie die Orthoverbindung sind, haben wir bei gleicher Behandlung des Harns aus den Aetherextracten neben wenig Harz nur Spuren von Krystallen erhalten. Die Versuche hierüber sind jedoch nicht abgeschlossen, und wir werden auch auf chemischem Wege die Constitution der beiden Isomeren zu ermitteln suchen.

Bemerkungen über die thierischen Melanine und das Hämosiderin

von

John J. Abel.

Virchow's Archiv **120**, 204. — Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **20**, 431.

Die Farbstoffe des thierischen und speciell des menschlichen Organismus lassen sich in zwei Gruppen eintheilen, in die Blutfarbstoffe und ihre Abkömmlinge (Bilirubin u. s. w.) und in die Gewebsfarbstoffe, wozu das Pigment der Haut und der Haare, der Iris, der Choroidea, der Pia mater u. s. w. gehören. Während aus dem Blutfarbstoffe durch künstliche Mittel Hämatoporphyrin entsteht, wird dasselbe normaler

Weise in der Leber oder pathologischer Weise in den Blutextravasaten in Bilirubin verwandelt, das mit dem Hämatoporphyrin isomer ist. Unsere Kenntnisse über die Gewebsfarbstoffe sind viel dürftiger. In jüngster Zeit sind solche von Sieber, Nencki und Berdez, Mörner, Hirschfeld und Neumann dargestellt und untersucht worden. Beim Austritt von Blut in das Gewebe wird das Hämoglobin in Eiweiss und Bilirubin gespalten, welche beide eisenfrei sind; dabei treten noch braunschwarze bis schwarze, auch farblose Körner auf, welche durch Salzsäure und Ferrocyankalium blaugefärbt werden und deshalb immer als „eisenhaltiges Pigment", „eisenhaltige Melanine", angesprochen werden. Dies ist aber unrichtig, da wirklich eisenhaltige Pigmente, wie das Hämoglobin, das Eisen durch genannte Reagentien nicht erkennen lassen. Der von Neumann eingeführte Name „Hämosiderin", der alle Körper bezeichnet, die Eisenreactionen geben, kann zu Missverständnissen Veranlassung geben. Körper, welche mit Salzsäure und Ferrocyankalium Berlinerblau geben, sind entweder Eisenoxydsalze oder Eisenalbuminate. Verf. hat derartige Verbindungen dargestellt und gefunden, dass sich ihnen das Eisen durch Salzsäure grösstentheils entziehen lässt. Ueber die chemische Zusammensetzung der schwarzen Körner der Extravasate sind die Ansichten der Autoren verschieden. Nach Perls enthalten dieselben das Eisen im Oxydul- und Oxydzustande; Verf. weist darauf hin, dass sich dies durch die gebräuchlichen Reagentien nicht entscheiden lasse. Denn das zum Nachweise des Oxyduls benutzte rothe Blutlaugensalz wird durch die organischen Gewebe sehr rasch zu Ferrocyankalium reducirt, so dass auch bei vorhandenem Eisenoxyd damit eine Reaction auf Eisenoxydul erhalten wird. Ausser Eiweissstoffen geben auch die thierischen Kohlehydrate, Glycogen und Thiergummi in alkalischer Lösung mit Eisenoxydsalzen rothbraune eisenhaltige Niederschläge, aus denen sich das Eisen nicht vollständig entfernen lässt. Es geht eben so wenig in anderen ähnlichen Fällen an, von einem eisenhaltigen Pigmente wie hier von einer Eisenverbindung zu sprechen.

Ueber das Vorkommen von Methylmercaptan im menschlichen Harn nach Spargelgenuss

von

M. Nencki.

Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **28**, 206. — Gazeta Lekarska No. 2 (1891).

Seitdem ich gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) das Methylmercaptan bei der anaërobiotischen Gährung des Eiweisses aufgefunden habe, sind wir wiederholt diesem Gase[2]) bei unseren Untersuchungen begegnet. Aus Eiweiss wird Methyl-

[1]) Wien. Monatsh. f. Chem. **10**, 526. — Dieser Band S. 113.

[2]) Reines, nach der Vorschrift von Peter Klason (Ber. **20**, 3407) dargestelltes Methylmercaptan siedet schon bei 5·8° bei 752 mm Bst. und ist somit bei gewöhnlicher

mercaptan durch die Spaltpilze nicht allein bei Luftausschluss, sondern auch be Luftzutritt gebildet. Es entsteht auch aus Leim[1]) und ist ein Bestandtheil der mensch lichen Dickdarmgase[2]). Herr Dr. Macfadyen hat es unter den flüchtigen Bestand theilen des reifen Camembertkäses nachgewiesen. Gleich dem Indol oder Pheno ist Methylmercaptan ein constantes Product der Eiweissfäulniss und fortgesetzte Unter suchungen werden vielleicht auch andere dabei auftretende schwefelhaltige Product aufdecken. Natürlich ist die Menge dieses Gases bei der Gährung eiweisshaltige Stoffe nur gering, doch gestattet unser Verfahren, selbst einige Milligramme davoı nachzuweisen. Hat man wenig Methylmercaptan zu erwarten, so ist es zweckmässig nur etwa 30 ccm der 3 proc. Cyanquecksilberlösung zu verwenden. Der erhalten und gut ausgewaschene Niederschlag des Quecksilbers wird noch feucht mit wenig Salzsäure aus einem Reagensröhrchen destillirt und die entweichenden Dämpfe ii einige Cubikcentimeter frisch bereiteter 3 proc. Bleizuckerlösung geleitet. Sobal die Flüssigkeit siedet, geht das Methylmercaptan über und bildet, selbst wenn e nur in Spuren vorhanden ist, an dem Zuleitungsröhrchen, da, wo es in die Bleilösung taucht, einen hellgelben, krystallinischen Beschlag. Gleichzeitig wird der charakte ristische Geruch des Gases wahrnehmbar. Es ist rathsam, das Erhitzen nicht z lange fortzusetzen, da später auch Salzsäure übergeht und das Bleimercaptid mi Chlorblei vermischt wird. Bei dem Versuche, das $(CH_3S)_2Hg$ statt durch Salzsäur durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zu zersetzen, verflüchtigte sich da Methylmercaptan nicht.

Einen dem charakteristischen des Methylmercaptans ähnlichen Geruch hat auc der menschliche Harn nach Genuss der Spargelsprösslinge, welcher Umstand mic veranlasste, mittelst unserer Methode einen früheren Versuch von Hilger[3]) z wiederholen. Hilger destillirte seinen Harn, nachdem er drei Tage hindurch nu Spargelsprösslinge genossen, mit Fett oder Essig und Oel zubereitet, nebst weni Brot. Das Destillat reagirte stark alkalisch und zeigte den charakteristischen Geruc des Spargelurins im höchsten Grade. Trotzdem gelang es ihm nicht, durch wieder holte Fractionirung einen bestimmten Körper zu isoliren. Auf meine Bitte habe sich vier im Laboratorium arbeitende Herren bereit erklärt, statt ihrer Mittags mahlzeit um 12 Uhr nur Spargel mit Butter, und zwar in der beträchtlichen Meng von 7 kg zu essen. Als Getränk wurde daneben Thee eingenommen. Der bis 8 Uh Abends gelassene Harn wurde mit 10 g Oxalsäure angesäuert und auf dem Sand bade destillirt, wobei die entweichenden Gase ein Waschfläschchen mit 3 pro Cyanquecksilberlösung passirten. Sobald der Harn zu sieden begann, trübte sic die Quecksilberlösung und nach einiger Zeit entstand in derselben in geringer Meng ein gelblichgrüner Niederschlag. Die die Trübung bewirkenden flüchtigen Product

Temperatur ein Gas. In einem kürzlich erschienenen Leitfaden für die Darstellun chemischer Präparate von Dr. Hugo Amsel (Stuttgart 1891) citirt der Verf. S. 67 di Arbeit Klason's, sagt aber dabei: Methylmercaptan ist eine Flüssigkeit, welche bei 20 siedet.

[1]) Wien. Monatsh. f. Chem. **10**, 908. — Dieser Band S. 118.

[2]) Ebenda **10**, 862. — Dieser Band S. 117.

[3]) Ann. Chem. Pharm. **171**, 208.

die nicht den reinen Geruch des Methylmercaptans, sondern auch einen lauchartigen besassen, entweichen gleich bei Beginn der Destillation, und als in der ersten Vorlage etwa 50 ccm des Destillates übergingen, vermehrte sich der Niederschlag in der Quecksilberlösung nicht mehr. Da die Menge des Quecksilberniederschlages für die weitere Verarbeitung mir zu gering schien, so wurde der Versuch drei Tage später, jedoch nur mit 5 kg Spargel, wiederholt. Der Quecksilberniederschlag von beiden Versuchen wurde jetzt abfiltrirt, ausgewaschen und mit etwa 4 ccm 5 proc. Salzsäure aus einem Reagensröhrchen destillirt. Das jetzt beim Aufkochen übergehende Gas hatte den reinen Geruch des Methylmercaptans und es entstand in der Bleilösung, sowohl an den Wänden des Zuleitungsröhrchens, wie auch am Boden ein gelber Niederschlag, der, unter dem Mikroskope betrachtet, krystallinisch war. Für weitere Reactionen reichte die Menge des erhaltenen Bleisalzes nicht aus. Die angeführten Thatsachen genügen aber, um mit grösster Wahrscheinlichkeit das Methylmercaptan als die Ursache des eigenthümlichen Geruchs des Spargelurins anzusehen. Möglicherweise finden sich daneben noch Spuren anderer, schwefelhaltiger Producte. Es wird nun von Interesse sein, nach der Muttersubstanz des Methylmercaptans in den Spargelsprösslingen zu suchen. Mein verehrter Freund, Dr. O. Loew in München, dem ich über diesen Befund schrieb, theilte mir in seiner Antwort eine von ihm gemachte und hierauf bezügliche interessante Beobachtung mit, die ich nach eingeholter Erlaubniss aus seinem Briefe hier citire: „Seit längerer Zeit mit dem Studium der Wirkungen des Platinmohrs beschäftigt, hatte ich einmal versucht, ob Sulfate bei Gegenwart von Zucker durch Wirkung des Platinmohrs nicht zur Reduction gebracht werden könnten. Da damals ein positives Resultat nicht erhalten wurde, versuchte ich Asparagin und Sulfate, und war nicht wenig erstaunt, als ich schon nach einer halben Stunde Digestion mit Platinmohr im Sulfate eine schöne Rhodanreaction mit $FeCl_3$ erhielt. Die Reaction war nicht zu verwechseln mit der durch Acetate oder Formiate hervorgebrachten; denn sie war gegen verdünnte HCl beständig und hatte dieselbe Nuance wie Rhodanreaction bei 1:200 bis 300 Verdünnung von CNSK.“

„Vor Kurzem nun wollte ich diese Reaction näher studiren, wo möglich eine quantitative Bestimmung machen und das Product isoliren. Zunächst aber galt es, Controlversuche zu machen, und da war ich nun nicht wenig erstaunt, als ich sah, dass Asparagin allein mit Platinmohr behandelt dieselbe Reaction giebt. Da aber das Asparagin frei von Sulfaten war, musste es somit einen organischen S-haltigen Körper enthalten und in der That wurde nach Verbrennen mit Soda und Salpeter ein, wenn auch geringer, Niederschlag, mit $BaCl_2$ erhalten. Ich schätze die Menge des $BaSO_4$ auf höchstens 0.1 Proc. des Asparagins. Asparaginsaures Natron, aus demselben Asparagin dargestellt, gab bei Behandlung mit Platinmohr die Reaction mit $FeCl_3$ nicht.“

„Es scheint mir nun die Folgerung gerechtfertigt, dass beim Eiweisszerfall bei der Keimung (das Asparagin wird aus Lupinenkeimlingen dargestellt) nicht aller Schwefel in Sulfate verwandelt wird, sondern ein Theil in Form einer einfach constituirten organisirten S-Verbindung abgespalten wird, aus der sich leicht bei Oxy-

dation die Rhodangruppe bildet — und vielleicht bei Reduction durch Spaltpilze das Methylmercaptan [1]).“

Der Gedanke liegt nahe, dass ähnliche Vorgänge im Thierkörper, wo Rhodansalze im Speichel und Harn nachgewiesen wurden, stattfinden. Der von uns verarbeitete Harn nach Spargelgenuss gab direct geprüft keine Rhodanreaction; doch wird es nöthig sein, bei Wiederholung des Experimentes die Schwefelsäuren und den nicht oxydirten Schwefel im Harn zu berücksichtigen.

Bern, im November 1890.

Chemisch-bacteriologische Untersuchungen eines Euterentzündung und Käseblähung bewirkenden Bacillus

von

A. Macfadyen.

Landwirthschaftl. Jahrbuch der Schweiz **4**, 64. Journ. of Anatomy and Physiolog. **25**, 571. Referirt von den Herausgebern.

Verfasser unternahm eine chemisch-bacteriologische Untersuchung über den Euterentzündung beim Rindvieh hervorrufenden Mikroorganismus, welcher unter dem Namen Bacillus Guillebeau c bekannt ist. Prof. Hess [2]) in Bern hat gezeigt, dass verschiedene Mikroben im Stande sind, die Euterentzündung („der gelbe Galt“) hervorzurufen. Das erste Symptom der Erkrankung ist die chemische Veränderung der Milch, nämlich die Bildung von Gerinnseln in derselben. Es ist für die Landwirthschaft und speciell für die Käsefabrikation von Bedeutung, dass die Milch nach Verschwinden der Krankheit nicht sofort ihre normale Beschaffenheit wiedererlangt. Nach Analysen der Herren Dr. Schaffer und Dr. Bondzyński [3]) zeigt die Milch saure Reaction, molkenähnliches Aussehen, verminderten Fett- und Zuckergehalt, sowie verminderten Trockenrückstand und erhöhten Gehalt an Mineralstoffen, Wasser und Eiweiss.

Prof. Guillebeau hat die specifischen Mikroorganismen, welche die verschiedenen Formen der Euterentzündung verursachen, isolirt. Es ist ihm gelungen, mittelst dieser Mikroben bei Kühen und Ziegen experimentell denselben Symptomencomplex hervorzurufen. Dr. v. Freudenreich [4]) hat die Wirkung dieser Mikroben

---

[1]) Inzwischen veröffentlicht O. Loew (Berl. chem. Ber. **23**, 3125) die Beobachtung, dass oxymethylsulfonsaures Natron, in alkalischer Lösung mit Platinmohr erwärmt, zu Schwefelnatrium reducirt wird, wobei ein lauchartiger Geruch, wahrscheinlich von Spuren des $(CH_2S)_3$ herrührend, auftritt. Vermehrt man bei diesem Versuche die Menge des Platinmohrs und des sulfonsauren Salzes, so erinnert der auftretende Geruch auf das deutlichste an faulende Eiweissstoffe und es liegt nahe, zu vermuthen, dass hier eine Spur Methylmercaptan gebildet wird.

[2]) Landwirthsch. Jahrb. d. Schweiz 1888.

[3]) Ebenda.

[4]) Annales de micrographie (1890).

auf Käse untersucht und dabei drei verschiedene Bacillen, welche er Guillebeau a, b und c genannt hat, und welche eine Blähung des Käses bedingen können, isolirt. Es war von Interesse, diese den „Milchfehler" hervorrufenden Bacillen auf ihre chemische Thätigkeit zu untersuchen und ihre Stoffwechselproducte zu ermitteln. Die morphologischen Eigenschaften des Bac. Guillebeau c sind kurz folgende. Der Bacillus ist ein Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, nicht selten können auch coccenähnliche Formen constatirt werden; seine durchschnittliche Länge beträgt 1 μ. In Gelatinestichculturen bildet das Stäbchen längs dem Stichcanal eine dicke, weisse, confluirende Masse, an der Oberfläche eine weisse, zähe, unregelmässig gebuchtete, an der Gelatine festklebende, fadenziehende Ausbreitung. Die Gelatine wird durch den Mikroben nicht verflüssigt.

Die Untersuchung der chemischen Vorgänge bei Einwirkung des Bac. Guillebeau c, sowie der Spaltungsproducte von Eiweiss, Zucker und Fett ergab Folgendes. Es wurden einerseits 500 g gehacktes Fleisch mit zwei Litern Wasser übergossen und nach der Sterilisation mit dem Bac. Guillebeau c geimpft, dann die Luft durch CO_2 ausgetrieben; es fand keine Gasentwickelung statt und weder in aëroben, noch in anaëroben Culturen konnte eine Zersetzung des Eiweisses beobachtet werden. Andererseits werden zwei Liter Rinderbouillon, mit 100 g Traubenzucker und 50 g Kalkcarbonat versetzt, als Nährlösung verwandt und nach Sterilisation im Autoclaven mit einer Gelatinecultur des Bac. Guillebeau c inficirt. Schon nach 24 Stunden war Gasentwickelung zu beobachten; das am dritten sowie an den folgenden Tagen aufgefangene und analysirte Gasgemisch bestand aus CO_2 und H_2; zu Anfang war das Verhältniss dieser Gase wie 2 : 1, nach 5 Tagen wie 5 : 1, und nach 14 Tagen fanden sich nur noch 0.75 Vol.-Proc. H., hingegen 99.25 Vol.-Proc. CO_2; Methan konnte nicht constatirt werden (hieraus ist zu schliessen, dass bei abnormen Gährungen während der Fabrikation von Emmenthaler Käse das brennbare Gas Wasserstoff ist). Die Versuchsdauer war bei den aërob und den anaërob aufgestellten Culturen die nämliche, sie betrug 20 Tage. Obschon der Mikrobe ein facultativer Anaërobe ist, so ist nichtsdestoweniger bei Luftzutritt die Vergährung des Zuckers eine vollständigere, als wie bei Luftabschluss. Ausserdem wurde noch, und zwar mit positivem Resultat, versucht, Glycerin (5 Proc.) mit Zusatz von Kalkcarbonat (2 Proc.) zu zersetzen; die Prüfung der fettspaltenden Wirkung des Bacillus ergab ein negatives Resultat.

A. Die Zersetzungsproducte des Zuckers durch den Bac. Guillebeau c waren: 1. Gährungsmilchsäure, 2. Essigsäure, 3. Aethylalkohol (höher siedende Alkohole waren nicht vorhanden); von Gasen fanden sich CO_2 und H_2.

Versuche an Thieren ergaben, dass den Bac. Guillebeau c und a enthaltende Milch gesundheitsschädlich wirkt. Die Milch wird von dem Bac. Guillebeau a rascher coagulirt (in 18 bis 20 Stunden) als von dem Bac. Guillebeau c; im letzteren Falle tritt die Gerinnung erst nach 22 bis 26 Stunden ein. Die Fütterung eines erwachsenen Hundes mit vergährter Milch übte keine pathologische Wirkung aus, bei jungen Katzen dagegen wirkte dieselbe Milch verdauungsstörend. Möglicherweise kann solche Milch nach der Meinung des Verfassers auch auf kleine Kinder eine nämliche Wirkung ausüben.

B. Die Schädlichkeiten, welche auf Grund vorliegender Untersuchung für die Landwirthschaft durch den Bac. Guillebeau c entstehen, sind folgende: er ist 1. als specifischer Erreger der Euterentzündung der Kühe, 2. als Ursache einer wesentlichen Milchveränderung, 3. als Erreger einer krankhaften Gährung des Käses 4. auf Grund der Versuche an jungen Katzen als möglicher Erreger der Verdauungsstörung bei Kindern zu betrachten.

Ueber die Antisepsis der Baumaterialien

von

Victor Bovet.

Annales de Micrographie **2**, 97. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. untersuchte die antiseptische Wirkung von α-Oxynaphtoësäure, ihrer Zink- und Bleisalze und derselben Salze von Salicylsäure. α-Oxynaphtoësäure und salicylsaures Zink haben sich als gute Antiseptica erwiesen. 1 proc. Lösungen wirken hemmend auf Fäulniss von Fleisch oder Pankreas und tödten die reine Cultur im Verlauf von 24 Stunden. Wenn man mit 5 proc. Lösung dieser Salze verschiedene Stoffe, wie z. B. Gyps, Holz, Papier und Kleiderstoffe, imprägnirt, sie danach trocknet, dann behalten sie mehrere Monate lang bactericide Eigenschaften; nämlich, wenn man solche imprägnirten Stoffe mit verschiedenen Reinculturen (Bac. cyanogenes, pyocyaneus, micrococcus ureae) besprengt, so wachsen auf denselben keine Bacterien mehr. Verf. empfiehlt entsprechende Materialien beim Bau der Wohnhäuser nach diesem Verfahren zu behandeln.

Ueber die bei der anaërobiotischen Gährung auftretenden Gase

von

V. Bovet.

Annales de Micrographie **2**, 322. — Nach dem Referate von Dr. W. Kruse abgedruckt. Centralblatt f. Bacter. u. Parasit. **8**, 174.

Nach den einander widersprechenden Versuchsergebnissen Arloing's, Nencki's und Anderen blieb es zweifelhaft, ob bei der Zersetzung von Eiweisssubstanzen durch anaërobe Bacterien freier Stickstoff entwickelt wird. Zur Lösung dieser Frage beizutragen, experimentirte Verf. mit dem Bacillus des Rauschbrands (Charbon symptomatique), den er auf Eiweiss resp. Eigelb cultivirte. Als Culturgefäss diente ein ballon, in den zwei Glasröhren eingeschmolzen waren, deren eine zum Ab- en der Gase diente. Durch die andere, bis zum Boden reichende wurde das

Impfmaterial eingeführt und die Kohlensäure eingeleitet, die zum Verdrängen der Luft benutzt wurde. Der Ballon mit der Culturflüssigkeit (50 g Albumin auf 1000 g Wasser) wurde bei Bruttemperatur gehalten. Nach vier bis acht Tagen bestimmte Verf. im Eudiometer die Gase, die sich aus der Cultur entwickelten. Im Durchschnitt fand sich 81 bis 86 Proc. Kohlensäure, der Rest war Wasserstoff, nur spurenweise waren Schwefelwasserstoff, Methylmercaptan und Sumpfgas vorhanden. Als dies festgestellt war, wurden in einer anderen Versuchsreihe die Gase analysirt, nachdem sie vorher von Kohlensäure, Wasserdampf u. s. w. befreit waren. So konnten allerdings minimale Mengen Stickstoff, z. B. in einem Experiment 0.21 Proc. der Gesammtmenge des entwickelten Gases, nachgewiesen werden, ein Quantum, das Verf. aus der Unmöglichkeit, die Luft ganz aus dem Apparat zu vertreiben, erklären möchte.

Ein eidgenössisches Hygieine-Institut oder Subvention der cantonalen Anstalten

von

M. Nencki.

Schreiben an den Präsidenten des bernischen cantonalen Aerztevereins Herrn Prof. Th. Kocher, Bern.

Lieber Freund!

Deine Aufforderung, zu Händen der cantonalen Aerztecommission meine Ansicht über ein eidgenössisches hygieinisches Institut zu äussern, ist sehr ehrenvoll. Sie kommt mir aber sehr ungelegen. Die Ueberhäufung mit allen möglichen Arbeiten macht es mir schwer, die angeregte Angelegenheit nach jeder Richtung durchzudenken, und so sehr ich auch die Aufforderung des cantonalen Aerztevereins zu würdigen weiss, so hätte ich doch die Ausarbeitung meines Gutachtens für spätere Zeiten verschoben, wenn nicht die Verhandlung der eidgenössischen Commission in Sachen der eidgenössischen Hochschule, resp. Unterstützung der cantonalen, sowie die Broschüre von College Sonderegger schon früher einen gewissen Reiz auf mich ausgeübt hätten. Als Docent an unserer Hochschule, wo ich seit nahezu 20 Jahren die Entwickelung und Leistungsfähigkeit der cantonalen schweizerischen Hochschulen zu beobachten Gelegenheit hatte, habe ich den Eindruck bekommen, als ob durch die abfälligen Urtheile über die cantonalen Anstalten und die überspannten Hoffnungen auf die Leistungen eines eidgenössischen hygieinischen Instituts oder Hochschule ein Unrecht begangen werde. Ich glaube, dass Du und noch andere Collegen von gleichem Missbehagen erfüllt sind. Die cantonale Aerztecommission bitte ich daher um Nachsicht, wenn ich, bevor ich mich über die Zweckmässigkeit eines eidgenössischen hygieinischen Institutes ausspreche, vorerst meine Ansicht über eine eidgenössische Hochschule erörtere. Eines lässt sich vom anderen nicht trennen.

Um gleich in medias res zu kommen, stelle ich die Behauptung auf, dass wir bereits nicht eine, sondern vier eidgenössische medicinische Facultäten haben, mit dem einzigen Unterschiede, dass sie nicht von der Eidgenossenschaft, sondern von einzelnen Cantonen unterhalten werden. Die eidgenössisch diplomirten Aerzte werden an den cantonalen Hochschulen erzogen und ich glaube nicht, dass ihre wissenschaftliche Ausbildung, ihr patriotischer Geist und Vaterlandsliebe grösser in der von der Eidgenossenschaft, als in den von den

Cantonen unterhaltenen wäre. Als Mediciner habe ich kein Urtheil über die Leistungen der Juristen, Theologen und Philosophen; dagegen bezüglich der wichtigsten und kostspieligsten Zweige des menschlichen Wissens, Naturwissenschaften und Medicin, ist es leicht, die obige These zu beweisen. In meiner Fachwissenschaft, der Chemie, ist die Anzahl der jährlich erscheinenden Publicationen über Untersuchungen aus schweizerischen Laboratorien in den letzten 15 Jahren eine ebenso grosse, wie absolut genommen in ganz Oesterreich, und grösser als in Schweden und Norwegen, Belgien oder Holland. Die durchschnittliche Qualität derselben steht nicht hinter den Leistungen Frankreichs, Deutschlands u. s. w. Ebenso stehen die Leistungen in der Medicin nicht hinter denen Deutschlands, und dabei wird kein Mensch bestreiten, dass bei einer Unterstützung von Bundes wegen noch viel mehr geleistet werden könnte. Der Grund, weshalb diese auf schweizerischem Boden und für schweizerisches Geld ausgeführten Untersuchungen nicht als Leistungen der schweizerischen Hochschulen dem weiteren Publicum bekannt sind, liegt darin, dass wir unsere Arbeiten in deutschen und französischen Zeitschriften drucken und wir, was kaum glaublich erscheint, in der Schweiz eine Fachzeitschrift für Mathematik, Botanik, Chemie oder irgend eine der speciell medicinischen Wissenschaften nicht besitzen. Das Correspondenzblatt für schweizerische Aerzte und die Revue médicale haben zum Zweck, dem praktischen Arzte und den ärztlichen Standesinteressen zu dienen. Die Journale und Jahresberichte der wissenschaftlichen Vereine schweizerischer Städte fristen ein kümmerliches Dasein und bringen, wenn auch verschiedenes Werthvolle, doch nur Sachen von localer Bedeutung, da alle Entdeckungen und Beobachtungen von allgemeinerem Werthe in die auswärtigen Fachzeitschriften wandern. Es ist also begreiflich, wie schwer es ist, sich über die Leistungen der schweizerischen Hochschulen ein Urtheil zu bilden, und weshalb ihnen wiederholt die verdiente Anerkennung nicht zu Theil wurde.

Seit der Gründung der drei jüngsten schweizerischen Hochschulen, Zürich, Bern, Genf, ist es nicht zu verkennen, dass dieselben, ebenso wie Basel, was die Frequenz, wissenschaftliche Anstalten und Leistungen betrifft, in steter, erfreulicher Entwickelung begriffen sind. Die medicinischen Anstalten in Bern sind vorzüglich eingerichtet, und es ist Dir bekannt, dass, als vor Kurzem College Lichtheim nach Königsberg übersiedeln sollte und die dortigen Einrichtungen der medicinischen Klinik besichtigte, er darüber klagte, dass, was die Mittel für den Unterricht und das Arbeiten betrifft, er sich entschieden verschlechtere; und doch gehören die Einrichtungen der Königsberger medicinischen Klinik, dank den Bemühungen seines Vorgängers Naunyn, mit zu den besseren in Deutschland. Dass wir nicht in jeder Hinsicht auf der Höhe stehen, ist ja bekannt, aber dass dem Mediciner alles Wissenswerthe für seinen künftigen Beruf auf den schweizerischen Hochschulen ebenso gut gelehrt und gezeigt wird, wie auf den deutschen oder französischen Hochschulen, ist sicher. Der naturwissenschaftliche und medicinische Unterricht hängt am allerwenigsten von einem glänzenden Redner ab. Sowohl in den beschreibenden wie erklärenden exacten Wissenschaften kommt es darauf an, dass der Student richtig sieht und das Gesehene verstanden hat. Darin liegt ja auch der anerkannte Vortheil kleinerer Hochschulen, dass der Lehrer dem Studirenden alles besser zeigen und erklären kann; und dieses ist für mich der Hauptgrund, weshalb ich mehrere kleine cantonale Hochschulen einer grossen eidgenössischen vorziehe. Ich habe als Student die Vorlesungen über pathologische Anatomie an einer der grössten Universitäten Deutschlands besucht. In dem Demonstrationscurs sass in der Nähe des Professors eine Gruppe deutscher, russischer und amerikanischer Aerzte und hinter denen erst die Studenten. Wir bekamen die Präparate erst eine halbe Stunde später zur Besichtigung, während der Professor unterdessen schon ein ganz anderes Präparat besprach. Ich kann mit gutem Gewissen sagen, viel gelernt habe ich dabei nicht.

Ebenso wenig, wie ich eine allzu grosse Frequenz in unseren Hörsälen und Laboratorien für wünschenswerth halte, bin ich ein Freund der grossartigen naturwissenschaftlichen Institute, wie sie namentlich in Deutschland nach dem deutsch-französischen Kriege Mode geworden sind. Sie leisten nicht das, was verhältnissmässig für das dafür ausgeworfene Geld geleistet werden könnte. Der Vorstand eines derartigen chemischen, physiologischen

oder eines hygieinischen Laboratoriums verliert so viel Zeit durch die Verwaltung des Institutes, dass er neben den obligaten Vorlesungen und anderweitigen Verpflichtungen kaum noch Zeit übrig hat, um selbst arbeiten zu können. Man wird mir einwenden, dass dazu seine Assistenten und Schüler da sind, denen er nur seine Ideen und Vorschläge mitzutheilen habe. Aus eigener Erfahrung habe ich eine andere Ansicht darüber. Mit dem Augenblicke, wo ich selber die einzelnen Untersuchungen am Arbeits- oder Mikroskopirtisch nicht mitmache, wird vieles übersehen und manche Anregung für den Lehrer selbst geht verloren. Vollends bin ich ein Gegner derartiger Anstalten, wo der Chef derselben nicht alle Zweige der in der Anstalt cultivirten Wissenschaft beherrschen kann. In Berlin ist z. B. eine grossartige Anstalt für Physiologie errichtet worden. Dem Director, der gleichzeitig Ordinarius für Physiologie an der Universität ist, sind vier sogenannte selbständige Abtheilungschefs unterstellt, ein anatomischer, ein chemischer, ein physikalischer und ein eigentlich physiologischer. Ich zweifle daran, dass der Director der Anstalt — eine Celebrität in der Nervenphysiologie — in gleicher Weise über die Fortschritte der physiologischen Chemie orientirt ist, wie sein Abtheilungsdirigent, und es ist immer ein missliches Verhältniss, wenn ein Assistent eingehendere Kenntnisse als sein Chef besitzt. Nach meiner Ansicht wäre es viel richtiger, für das gleiche Geld statt einer zwei Anstalten zu errichten. Eine für die animale Physiologie — die Mechanik des Körpers, die Sinnes- und Nervenphysiologie. Die zweite für die vegetative Physiologie — Ernährung, Stoffwechsel, Chemie der Gewebe und der Ausscheidungen umfassend.

Es wäre dadurch besser sowohl für die Forschung, als auch für den Unterricht in der Physiologie gesorgt. Die grössere Specialisirung wird eine bessere Schulung zur Folge haben. Die physiologische Chemie wird an vielen deutschen Hochschulen, darunter auch Berlin, als Nebenfach von den Studirenden nur oberflächlich betrieben, und deshalb, wie Prof. Hüfner in Tübingen vor Kurzem sagte, „sieht man so häufig an Aufgaben, denen der erfahrene und geübte Chemiker gerne scheu aus dem Wege geht, mit naiver Zuversicht Jünger der medicinischen Wissenschaft herantreten, die kaum über die nothdürftigsten chemischen Kenntnisse, geschweige über chemische Uebung und Geschicklichkeit gebieten". Man wird aus dem oben Gesagten schon entnehmen, dass ich die Errichtung eines hygieinischen Instituts, wie es Dr. Sonderegger wünscht, nicht befürworte. Es ist ja bekannt, dass die Hygieine keine selbständige und am wenigsten eine neue Wissenschaft ist, sondern dass sie die praktische Verwerthung der Physik, der Chemie, der Baukunst und der eigentlichen medicinischen Wissenschaften umfasst und sich ihrer Untersuchungsmethoden bedient. Es ist die jüngste Schöpfung der medicinischen Forschung, auf die wir stolz sein können, die Bacteriologie, welche, wegen ihrer hohen Bedeutung für die Hygieine, einen neuen Anstoss für bessere Pflege und gründlicheren Unterricht in der Gesundheitslehre gegeben hat. Betrachten wir zunächst, mit welchen Gegenständen sich die Hygieine beschäftigt, und halten uns z. B. an das Programm des hygieinischen Instituts in München. Es wird dort docirt und untersucht: Die Beschaffenheit der Luft, des Wassers, des Bodens, der Nahrungs- und Genussmittel und die Ernährung; sodann Kleidung, Wohnung, Ventilation, Beleuchtung, Heizung, Baumaterialien, Wasserversorgung und Canalisation, Fabriken, Hospitäler, Schul-, Schlacht- und Leichenhäuser, Sanitätspolizei und Statistik, und dazu kommt noch die Bacteriologie. Dass dies alles nicht von einem und demselben Docenten gelehrt werden kann, liegt auf der Hand, und thatsächlich wird der Unterricht an den hygieinischen Instituten zwischen dem Director und seinen Assistenten getheilt. Auch Dr. Sonderegger verlangt in seinem Programm einen Professor für den chemisch-technologischen Theil der Hygieine, wie er ursprünglich in München oder London aufgestellt war, und einen zweiten Professor für den morphologischen Theil, besonders Bacteriologie und Desinfection. Wenn wir nun fragen, wer die Hygieine eigentlich lernen soll, um hernach die richtigen hygieinischen Maassregeln im Volke nicht allein lehren, sondern auch durchführen zu können, so sind es in erster Linie die Aerzte, in zweiter aber auch die Architekten und Ingenieure, welche letzteren nicht alle Theile, wohl aber den bautechnischen Theil der Hygieine lernen sollten. Ich glaube nicht, dass bei alledem, was ein Arzt zu erlernen hat, er sich noch eingehend mit den

Fragen der Baumaterialien, Beleuchtung und Heizung, Wasserversorgung u. dergl. m. beschäftigen kann. Bei der raschen Entwickelung der verschiedenen medicinischen Disciplinen und ihrer Specialisirung ist schon jetzt das Verlangen bei den Medicinern nach ne quid nimis vorhanden. Diese Forderung ist billig, und wir werden ebenso wenig von einem Architekten verlangen, dass er sich mit dem Nachweise der Tuberkelbacillen im Sputum oder der Typhusbacillen im Trinkwasser befasse. Ich bin daher der Ansicht, dass für den medicinischen Unterricht nur die Grundsätze der Bauhygieine beizubehalten, alle übrigen Details aber auszuschalten seien. Wohl aber halte ich es für durchaus wünschenswerth, dass an den polytechnischen Schulen ein Professor der Hygieine angestellt werde, der gleichzeitig Director eines experimentellen Institutes ist, wo alle die Fragen betreffend die Wohnung, Ventilation, Beleuchtung, Heizung, Baumaterialien, Wasserversorgung vom hygieinischen Standpunkt aus untersucht und docirt werden, und dass der Unterricht in diesem Zweig der Hygieine für die Bautechniker obligatorisch gemacht wird. Für den Mediciner würde ich den Unterricht in den oben genannten Fächern möglichst präcis und kurz zusammenfassen und dagegen die Bacteriologie, die Untersuchung der Luft, des Wassers und des Bodens, die Nahrungsstoffe und die Ernährung, die Antiseptik und die Desinfection in den Vordergrund stellen. Um dieses Forschungs- und Unterrichtsgebiet zu bewältigen, würde ein Docent nicht genügen. Es müssten jedenfalls zwei dafür angestellt sein, wovon der eine den physiologisch-chemischen, der andere den morphologisch-technischen Theil zu vertreten hätte. Wir wissen, dass selbst die unzweifelhaften Erreger bestimmter Infectionskrankheiten, wie z. B. die Tuberkel- oder Milzbrandbacillen, fortwährend auf künstlichen Nährböden gezüchtet, allmählich ihre pathogene Wirkung verlieren; dabei bleiben ihre Form, Art der Vermehrung und sonstige Eigenschaften anscheinend unverändert. Es ist also eine physiologische Eigenschaft der Mikroben, welche verändert worden ist. Aehnliches gilt auch bezüglich der Gährtüchtigkeit anaërober Spaltpilze. Die Bacterien sind einzellige Organismen, und um die chemischen Vorgänge in den thierischen Organismen zu studiren, ist es unerlässliche Bedingung, die Eigenschaften und Lebenserscheinungen einzelner lebendiger Zellen zu kennen, weshalb auch die physiologische Seite der Bacteriologie vorwiegend von den physiologischen Chemikern studirt worden ist, deren Aufgabe es ist, die vegetativen Vorgänge des Lebens zu erforschen. Derartige Untersuchungen erfordern die genaueste Kenntniss der chemischen Untersuchungsmethoden und können unmöglich von dem gleichen Forscher betrieben werden, der sich der morphologischen Seite der Bacteriologie zuwendet und dabei sein Arbeitsfeld nicht allein auf die Bacterien zu beschränken, sondern auch auf die niederen Pilze und Protozoen auszudehnen hat. In ausgiebiger Weise ist dieser Theilung der Arbeit in dem neu errichteten Institut Pasteur Rechnung getragen worden. Abgesehen von der Abtheilung für die Wuthkrankheit ist die übrige, der bacteriologischen Forschung gewidmete Anstalt in noch fünf folgende Abtheilungen, mit je einem selbständigen Director, getheilt: 1. Allgemeine Bacteriologie, den physiologisch-chemischen Theil umfassend. 2. Technische Bacteriologie. 3. Bacteriologie in ihrer Anwendung auf die Hygieine. 4. Morphologische Abtheilung der Bacteriologie, und 5. Vergleichende Bacteriologie. Ein hygieinisches Institut, in der von mir oben angedeuteten Weise an den medicinischen Facultäten eingerichtet und mit einem hygieinischen Museum ausgestattet, würde vollständig den Bedürfnissen des zukünftigen Arztes genügen. Auch der angehende Lebensmittelchemiker, Agriculturchemiker, Pharmaceut, Milchtechniker, sowie auch Schul- und Verwaltungsbeamte könnten darin in den chemischen und bacteriologischen Untersuchungsmethoden der Nahrungsstoffe, der Luft, des Wassers, des Bodens ausgebildet und über die allgemeinen Grundsätze der Hygieine auch in bautechnischen Fragen belehrt werden.

Man wird mir einwenden, Dr. Sonderegger verlangt nur ein schweizerisches hygieinisches Institut, ebenfalls mit zwei Professoren, und berechnet die jährliche Ausgabe dafür mit 60000 Franken. Ich begnüge mich damit nicht, sondern wünsche, dass an jeder cantonalen Hochschule ein derartiges Institut existire, und doch glaube ich, dass unter gegebenen Verhältnissen die Erfüllung meines Wunsches die Eidgenossenschaft weniger kosten wird, als die Errichtung eines eidgenössischen hygieinischen Institutes. Dr. Sonder-

:gger war nicht gut unterrichtet, wenn er am Schluss seiner Schilderungen zu dem Er-
;ebnisse kommt, „dass ein hygieinisches Institut in der Schweiz thatsächlich nur in Zürich
›estehe und nur diese Anstalt in Einrichtung, Programm, Betrieb und Dotirung den kleineren
hrer deutschen Schwesteranstalten entspricht". Ich überlasse es den Vertretern von Genf
nd Basel, die Angaben Dr. Sonderegger's zu bestätigen oder zu berichtigen. Bezüglich
Bern lautet der Bericht folgendermaassen: „Herr Prof. Dr. C. Emmert: Vorlesungen über
ffentliche Gesundheitspflege, wöchentlich 2 Stunden; 17 Zuhörer. Herr Prof. Dr. A. Vogt:
Vissenschaftliche Hygieine durch 2 Semester, wöchentlich 6 Stunden; 3 Zuhörer. Derselbe:
Iygieinische Excursionen; 2 Zuhörer. Stud. med. 227."

Dem gegenüber muss ich bemerken, dass seit dem Jahre 1876 an der bernischen Hoch-
:hule ein selbständiges Institut für medicinische Chemie (gegenwärtig mit einem Director
nd zwei Assistenten) unter meiner Leitung besteht, in welchem stets bacteriologische,
ıemische und auch hygieinische Arbeiten ausgeführt werden. Seit drei Jahren halte ich
'urse über bacteriologische Untersuchungsmethoden und wurde mir im vorigen Jahre von
er Regierung neben dem Lehrauftrage für die medicinische Chemie auch der für die
acteriologie ertheilt. Wenn auch die absonderlichen Ansichten des officiellen Vertreters
er Hygieine an unserer Hochschule bei Sachverständigen wenig Anklang finden, so wird
Iygieine von einer als ausgezeichneter Gerichtsarzt anerkannten Persönlichkeit gelesen.
eit zehn Jahren werden von Dr. Schaffer, Cantonschemiker und Privatdocent, an der
'niversität Vorlesungen und Curse über Lebensmittelchemie gehalten und auch die Ver-
altungsbeamten praktisch von ihm unterrichtet. Seit letztem Winter werden bacteriologische
urse nicht allein von mir, sondern auch von einem tüchtigen jungen Docenten, Dr. Tavel,
ehalten, und schliesslich ist vor Kurzem für die Schulhygieine der Privatdocent Dr. Girard
s Professor ernannt. Unsere Laboratorien werden nicht allein von schweizerischen
tudirenden besucht, sondern von Aerzten aus allen Ländern, die sich speciell mit den
ıcteriologisch-chemischen Untersuchungen bekannt machen wollen. Die thatsächlich an der
ochschule Bern vorhandenen Verhältnisse bezüglich der Hygieine entsprechen meinen oben
äusserten Wünschen nicht. Dass wir uns aber bezüglich des hygieinischen Unterrichts
it Zürich und auch grösseren deutschen Schwesteranstalten messen können, muss nach dem
›en Gesagten jeder anerkennen. Eine Erweiterung des bacteriologischen Unterrichts,
ımentlich nach der morphologischen Seite hin, sowie ein hygieinisches Museum, wäre für
ern sehr wünschenswerth. Die Bacteriologie ist für die sämmtlichen Zweige der Medicin
› wichtig geworden, dass grössere Arbeitsräume und bessere Dotirung dafür auch in Bern
›thwendig werden. Ich wüsste in der That nicht, ob die Chirurgie und die innere Medicin
cht grösseres Interesse haben und regeren Verkehr mit der Bacteriologie unterhalten, als
e Hygieine. Mit einem Theil der Summe, die Dr. Sonderegger für sein eidgenössisches
'gieinisches Institut verlangt, wäre Bern bezüglich des hygieinischen Unterrichtes vor-
glich gestellt, und ich nehme an, dass ähnliche Verhältnisse auch in Basel, Zürich und
enf bestehen.

Die Errichtung eines eidgenössischen hygieinischen Institutes, in Verbindung mit dem
›lytechnikum in Zürich, wäre der Anfang zu einer eidgenössischen medicinischen Schule
ıselbst. Ich glaube nicht, dass die historische Entwickelung des höheren Unterrichtswesens
der Schweiz die Kreirung einzelner eidgenössischer Facultäten oder einer eidgenössischen
ochschule wahrscheinlich macht. Es war dies wohl möglich vor dem Jahre 1832, wo von
m Canton Waadt die Gründung einer eidgenössischen Hochschule auf dem Concordatswege
geregt wurde. Seither sind die Hochschulen Zürich, Bern und später Genf entstanden, haben
re Leistungs- und Existenzfähigkeit bewiesen, und der Gedanke, Zürich, Bern oder Genf
rch Bevorzugung der einen derselben als eidgenössische zu erheben, die anderen aber
hm zu legen, wird in den maassgebenden Kreisen sicher nicht durchdringer
ss die Eidgenossenschaft die richtige Zeit zur Gründung einer eid
rpasst hat, gewinnt immer mehr an Boden, und die Vor
ntonalen Hochschulen vom Bund aus beeinflusst und un
:h immer mehr. Bei der Verfassungsrevision von 1

früheren Bundesverfassung, wonach der Bund befugt ist, eine Universität und eine polytechnische Schule zu errichten, trotz der energischen Opposition von Kappeler in dem Sinne erweitert, dass nach Artikel 27 der neuen Verfassung „der Bund befugt ist, ausser der bestehenden polytechnischen Schule eine Universität und andere höhere Unterrichtsanstalten zu errichten oder solche Anstalten zu unterstützen".

Mehrere Gründe übrigens, die man früher als maassgebend für die Errichtung einer eidgenössischen Hochschule angegeben hat, sind jetzt nicht mehr stichhaltig. In dem Bericht der Commission für die eidgenössische Hochschule unter dem Präsidium von Bundesrath Franscini vom Jahre 1851 wird hervorgehoben, dass die Schweiz, aus souveränen Cantonen bestehend, über welche die Bundesmacht ausgleichend und zusammenfassend wirken soll, das grösste Interesse hat, die studirende Jugend aller Cantone an einer eidgenössischen Hochschule während einiger Jahre ihrer Bildungszeit zu vereinigen, damit die einstigen Führer der Cantone und des Bundes sich kennen lernen und befreunden. Seither ist durch die leichte Communication zwischen den einzelnen Universitätsstädten der Schweiz und die ausgedehnten Studentenverbindungen diesem Bedürfniss theilweise Rechnung getragen. Ueberdies glaube ich, dass der rechte Anfang und Weg, die Jugend der germanischen und romanischen Schweiz zusammenzubringen, in den Mittelschulen und Gymnasien, und erst secundär in den Hochschulen liegt. Auf den Gymnasien sollten die jungen Leute beide Sprachen so lernen, dass z. B. in den Schulen deutscher Zunge nicht allein das Französisch obligatorisch wäre, sondern einzelne Unterrichtsgegenstände, wie z. B. Geschichte, Geographie, beschreibende Naturwissenschaften, wenigstens in den höheren Classen, französisch vorgetragen würden und vice versa. Sind die jungen Leute derart vorbereitet, so werden die Deutschschweizer viel mehr die französischen und umgekehrt die romanischen Schweizer die Hochschulen deutscher Zunge frequentiren. Ein Verdienst der cantonalen Hochschulen ist es, dass jetzt viel weniger Schweizer im Auslande studiren, und diejenigen, die ins Ausland gehen, dies meistens nach Schluss ihrer Studien thun. Also nicht des systematischen Lernens wegen, sondern mehr wegen einzelner Disciplinen oder um die Einrichtungen an ausländischen Hochschulen kennen zu lernen. Dass das Lehrerpersonal an den cantonalen Hochschulen zum Theil aus ausländischen Lehrkräften sich rekrutirt, ist in meinen Augen für die schweizerischen Hochschulen kein Nachtheil. Besteht doch auch die Studentenschaft der schweizerischen Hochschulen zum Theil aus Ausländern, und es gereicht der schweizerischen Republik zur Ehre, auf diese Weise den internationalen Charakter der Wissenschaft zu wahren, und wird der Verkehr mit den ausländischen Hochschulen dadurch rege erhalten. Ich bin aber der Ansicht, dass bei Berufung ausländischer Gelehrter die cantonalen Regierungen das Vorgehen anderer europäischer Staaten nachahmen sollten. In Deutschland, Frankreich, Oesterreich wird ein vom Auslande berufener Professor dadurch eo ipso zum Staatsbürger des betreffenden Landes, und es wird ausdrücklich die Verzichtleistung auf die bisherige Staatsangehörigkeit, z. B. in Oesterreich, auch von Schweizern verlangt. Die an die schweizerischen Hochschulen berufenen Ausländer erhalten nicht das schweizerische Bürgerrecht. Im Canton Bern kann ein Professor 50 Jahre im bernischen Staatsdienste wirken, und bleibt sowohl er, wie seine in der Schweiz geborenen Kinder Fremde. Bei Berufungen aus dem Auslande mache man zur Bedingung die Annahme des Schweizerbürgerrechts. Die betreffende Regierung sollte die Maassregeln treffen, dass die Aufnahme in die betreffende Gemeinde möglichst erleichtert werde. Ein Ausländer lebt sich viel rascher und leichter in die Landesverhältnisse ein, wenn er das Bewusstsein der Zugehörigkeit hat.

Nach allen obigen Auseinandersetzungen halte ich dafür, dass, wenn wir statt einer centralen Anstalt für Hygieine mehrere gut dotirte, an den cantonalen medicinischen Facultäten und eine Lehrstätte für die Bauhygieine, verbunden mit einem Laboratorium, z. B. am Züricher Polytechnikum, haben, dann sowohl die rein wissenschaftlichen Leistungen in den verschiedenen Zweigen der Hygieine, als auch die Anzahl hygieinisch gebildeter Leute, welche im Volke die wahren Grundsätze der Gesundheitslehre nicht allein lehren, sondern auch ausführen werden, eine grössere sein wird.

Wenn ich daher die Beibehaltung der cantonalen Anstalten befürworte, so bin ich weit davon entfernt, die Verhältnisse in der Schweiz nicht allein bezüglich des Unterrichtes in der Hygieine, sondern auch bezüglich des ganzen höheren Unterrichtswesens als vollkommen zu bezeichnen. Der stets wieder auftauchende Gedanke einer eidgenössischen Hochschule ist ein Ausdruck des Unbehagens im Lande über die Missstände, welches eben dadurch, dass das höhere Unterrichtswesen rein Sache der Cantone ist, sich kundthut.

Es ist zunächst die cantonale Concurrenz ein Uebelstand. Wir haben bereits vier vollständige Universitäten und zwei Akademien: Lausanne und Neuenburg. In Freiburg wurde eine juridische und eine katholisch-theologische Facultät errichtet und in Lausanne ist eine fünfte medicinische Facultät im Werden begriffen. Ich denke, mit drei deutschen und zwei französischen medicinischen Facultäten haben wir in der Schweiz gerade genug. Eine weitere würde nur die bestehenden schädigen. Die Kosten einer Universität werden den einzelnen Cantonen fühlbar und einmal wird den stets wachsenden jährlichen Budgets derselben ein Halt zugerufen werden müssen. Das Budget der Hochschule Bern, das im Gründungsjahre 82000 alte Franken betrug, war nach 50jährigem Bestehen 392000 Franken und jetzt erreicht es nahezu eine halbe Million. Das Gleiche gilt wohl auch von den schweizerischen Schwesteranstalten. Die Ansicht, dass wir in der Schweiz genug Hochschulen haben und dass die cantonalen Mittel für die Zukunft nicht ausreichend sein werden, kommt allgemein zur Geltung. Daraus entsteht der Wunsch, dass die Centralbehörde — der Bund — sei es durch Gründung einer eidgenössischen Hochschule oder Dotirung, und dadurch Beeinflussung der bestehenden cantonalen Hochschulen, der Zersplitterung des höheren Unterrichtswesens entgegen wirken möge.

Die historische Entwickelung der Universitäten in der Schweiz macht jetzt die Neukreirung einer eidgenössischen Hochschule kaum möglich, und nach meiner Auffassung ist die Unterstützung der bestehenden vom Bunde aus, aber unter Zusicherung eines maassgebenden Einflusses rücksichtlich der Verwendung der Subsidien, das richtige. Es könnte auf diesem Wege der Zersplitterung und Neugründung höherer Unterrichtsanstalten wirksam entgegen gearbeitet werden. Die Einigung dessen, was in der Schweiz in der Wissenschaft geleistet wird, sollte der Bund noch auf eine andere Weise anstreben, und zwar durch Errichtung einer über den Cantonen stehenden schweizerischen Akademie der Wissenschaften. Der Mangel eines solchen Institutes in der Schweiz ist mir im vorigen Jahre deutlich fühlbar geworden. Hauptsächlich um den ungerechtfertigten Vorwürfen über die geringe Leistungsfähigkeit der cantonalen Hochschulen entgegenzutreten und zu beweisen, dass die Leistungen der Schweiz nicht hinter denen von Deutschland und Frankreich zurückstehen, wurde in einem engeren Kreise von Fachgenossen der Gedanke, ein schweizerisches Archiv für Physiologie und experimentele Medicin herauszugeben, angeregt. Die Zeitschrift sollte, im Gegensatz zum Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte, nur die aus den einzelnen schweiz. Laboratorien hervorgegangenen experimentellen Untersuchungen bringen. Der Redacteur des schweizerischen Correspondenzblattes, College Haffter, war damit einverstanden, ein schweizerischer Verleger wurde gefunden und das Archiv kam doch nicht zu Stande. Sonderinteressen der einzelnen Hochschullehrer und als Hauptgrund: die Zersplitterung des Materials wurde dagegen vorgebracht. Der letzte Grund ist absolut nicht stichhaltig. Nicht für eine einzige experimentelle Wissenschaft besitzt man eine Zeitschrift, in der alles diese Wissenschaft betreffende zu finden wäre. Ein Muster eines solchen Organs sind z. B. für Chemie die „Berliner chemischen Berichte", und doch genügen sie dem Chemiker nicht. Man ist genöthigt, ausserdem noch die „Annalen der Chemie", die „Monatshefte der Chemie" und andere deutsche und französische Journale zu halten. Für die Physiologie haben wir mehrere deutsche und ebenso viele englische, französische, italienische u. s. w. Journale. In der letzten Zeit haben sogar die drei nordischen Länder: Schweden, Norwegen und Dänemark, ein in deutscher Sprache herausgegebenes nordisches Archiv für Physiologie errichtet. Schon aus rein buchhändlerischer Speculation wird die Anzahl der Fachzeitschriften nicht ab-, sondern zunehmen, und thatsächlich ist jeder Fachgelehrte genöthigt, neben den ihm zusagenden Zeitschriften noch die für jede Specialwissenschaft vorhandenen Jahresberichte

zu halten. Hätten wir eine eidgenössische Akademie der Wissenschaften, so wäre es eine leichte Sache, ähnlich wie dies z. B. die Wiener Akademie bezüglich der Chemie gethan hat, aus ihren Sitzungsberichten alles das, was die Chemie oder Medicin betrifft, in Form besonderer Zeitschrift herauszugeben.

Die Hauptaufgabe einer eidgenössischen Akademie der Wissenschaften sollte eben sein, die Einigung dessen, was auf schweizerischem Boden und für schweizerisches Geld in der Wissenschaft geleistet wird, zu erzielen. Hat man Uebersicht über das, was geleistet wird, so weiss man auch, wo, wann und wie zu helfen ist. Die Errichtung einer solchen Anstalt dürfte keine Schwierigkeit bieten; die Sprachverschiedenheit kommt hier nicht in Betracht, da sie nicht an einen bestimmten Sitz gebunden zu sein braucht und die widerstrebenden Gelehrten für ein eidgenössisches Institut leicht zu gewinnen sein werden. Ihre Mitglieder sollten auf Vorschlag der zuerst Gewählten von der Bundesbehörde gewählt werden. Die Akademie sollte ein Berather des Bundes in allen höheren Unterrichtsangelegenheiten sein. Man wird mir einwenden, dass wir bereits eine allgemeine schweizerische naturforschende Gesellschaft besitzen. Sie entspricht aber etwa dem, was die deutsche naturforschende Gesellschaft ist, und kann die oben genannte Aufgabe einer eidgenössischen Akademie der Wissenschaften nicht erfüllen. Der Einwand, dass die Akademie eine monarchische Institution sei und für eine Republik nicht passe, ist nicht zutreffend. Den Nutzen und die Bedeutung der Akademie in der französischen Republik wird kein Sachverständiger unterschätzen. Die Organisation einer solchen Anstalt in der Schweiz könnte auf der breitesten demokratischen Grundlage geschehen. Nicht um die Eitelkeit Einzelner zu befriedigen, sondern, über den Interessen der Cantone stehend, sollte sie da sein, um die wissenschaftlichen Leistungen der ganzen Schweiz zum Wohle und Ansehen des Schweizervolkes zu vereinigen.

Bern, im März 1890.

1891

Ueber Spaltungsproducte der Eiweissstoffe

von

M. Nencki.

Vortrag in der chemischen Gesellschaft in Bern.
Schweiz. Wochenschr. für Pharm. Nr. 7.

Der Vortragende erinnert zunächst daran, dass die vor mehr als 15 Jahren ausgeführten Untersuchungen Schützenberger's von hervorragender Bedeutung in der Geschichte der Chemie der Eiweissstoffe sind. Bei den früheren Arbeiten von Liebig und seinen Schülern, Ritthausen, Hlasiwetz u. A. wurden neben krystalloiden Spaltungsproducten stets syrupöse, peptonartige Rückstände erhalten — ein unbekanntes x — wodurch die Aufstellung einer präciseren Hypothese über die Constitution der Eiweissstoffe nicht möglich war. Schützenberger[1]) war der erste, welcher fand, dass Eiweiss durch Erhitzen mit Barythydrat unter Druck auf 160 bis 200° vollkommen gespalten wird, und zwar nur in krystallinische Producte von verhältnissmässig einfacher Constitution. Er erhielt hierbei ausser Kohlensäure, Oxalsäure, Essigsäure und Ammoniak noch die Amidosäuren von der allgemeinen Formel: $C_n H_{2n+1} NO_2 . (n = 7, 6, 5, 4, 3)$, Tyrosin und krystallinische Producte von süssem Geschmack, von Schützenberger als Leuceïn und A- und B-Glucoproteïn bezeichnet, die sich von den Amidosäuren der Reihe $C_n H_{2n+1} NO_2$ durch einen Mindergehalt von Wasserstoff unterscheiden. Auf Grund dieser Resultate betrachtet Schützenberger das Eiweissmolekül als ein complexes Ureïd, wo die Wasserstoffe des Harnstoffs oder des Oxamids durch die Radicale der Amidosäuren ersetzt sind. Etwa ein Fünftel des Eiweissstickstoffs sei darin als Harnstoff enthalten. Das Eiweissmolekül $C_{72} H_{121} N_{18} O_{22} S$, mit Baryt

---

[1]) Vergl. Nencki's Opera omnia 1, 343 u. ff.

erhitzt, spaltet zwei Moleküle Harnstoff, ein Molekül Essigsäure und ein Atom Schwefel ab unter Aufnahme von 16 Molekülen Wasser. Als das einzige aromatische Spaltungsproduct erhielt Schützenberger das Tyrosin und da dasselbe nur in geringer Quantität aus Eiweiss erhältlich war, so glaubte er, dass dieser Körper bei der Aufstellung der Constitution der Eiweisskörper vernachlässigt werden dürfe. Fast gleichzeitig mit der Arbeit Schützenberger's (im Jahre 1875) wurde von dem Vortragenden das Indol als Gährungsproduct des Eiweisses zuerst rein dargestellt, kurz darauf das Skatol und das erste analysirte Ptomaïn von der Formel $C_8H_{11}N$, das Nencki[1]) später als Phenyläthylamin erkannte. Die Untersuchungen Nencki's wurden namentlich von Brieger fortgesetzt. Die zahlreichen von Brieger dargestellten Ptomaïne haben sich, abgesehen von den Derivaten des Lecithins und des Kreatins, als Diamine oder davon abzuleitende complexe Verbindungen herausgestellt. Das Aethylen-, Butylen-, Pentamethylendiamin, das Aethylenimid (Spermin) waren als Spaltungsproducte des Eiweisses bis jetzt nicht bekannt. Die Beobachtung von Jaffé, dass die Benzoësäure den Organismus der Vögel mit einem Diamin gepaart verlässt, stand vereinzelt da. Diese ganze Reihe der durch Gährung erhaltenen Spaltungsproducte des Eiweisses passte nicht in den Rahmen der Schützenberger'schen Constitutionsformel. Vor Kurzem hat nun Drechsel, als er Eiweiss nach dem Vorgange von Hlasiwetz mit Salzsäure und Zinnchlorür zersetzte, in den Mutterlaugen der auskrystallisirten Amidosäuren mehrere höchst interessante Spaltungsproducte erhalten, welche nach Ansicht Nencki's in naher Beziehung zu den Diaminen stehen und andererseits die Bildung des Kreatins und der Leukomaïne Gautier's erklären. Drechsel isolirte zwei basische Körper von der Formel $C_7H_{12}N_2O_2$ und $C_8H_{14}N_2O_2$. Diese Basen sind zweisäurig und wahrscheinlich entstehen daraus durch Reduction bei der Eiweissgährung die Diamine. Auch ein von Kerry durch Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems erhaltener, stickstofffreier, ketonartiger Körper von der Formel $C_8H_{16}O_4$ ist ein Derivat davon. $C_8H_{14}N_2O_2 + 2H_2 + 2H_2O = C_8H_{16}O_4 + 2NH_3$. Ausserdem isolirte Drechsel aus den Mutterlaugen einen dem Kreatin homologen Körper von der Formel $C_6H_{13}N_3O_2$, den er Lysatin nennt und der mit Barythydrat, ausser anderen Spaltungsproducten, Harnstoff liefert. Drechsel nimmt an, dass etwa der zehnte Theil des im Organismus aus Eiweiss gebildeten Harnstoffs durch einfache Hydrolyse aus dem Lysatin entsteht.

Wenn schon diese Resultate die Unhaltbarkeit der durch ihre Einfachheit einnehmenden Hypothese Schützenberger's hinreichend bewiesen, so ergaben die Untersuchungen über die aromatischen Spaltungsproducte des Eiweisses, dass auch hier die Verhältnisse viel complicirter sind. Nach den Untersuchungen Nencki's enthält das Eiweiss mit Sicherheit nicht eine, sondern drei aromatische Gruppen in seinem Molekül, nämlich 1. die Phenylamidopropionsäure, 2. die Oxyphenylamidopropionsäure (Tyrosin), und 3. die Skatolamidoessigsäure. Diese aromatischen Säuren machen etwa den zehnten Theil des Eiweissmoleküls aus. Das Glutin (Leim) unterscheidet sich dadurch von den echten Eiweissstoffen, dass es nur eine aromatische

[1]) Nencki's Opera omnia **1**, 195, 675 und **2**, 112.

Gruppe (Phenylamidopropionsäure) enthält und ausserdem als Hauptspaltungsproduct das Glycocoll (Amidoessigsäure) giebt, welches letztere aus echten Eiweissstoffen bis jetzt nicht erhalten wurde.

Diese bei der Gährung des Eiweisses erhaltenen einfacheren Spaltungsproducte sind jedenfalls im Eiweissmolekül in viel complexerer Form enthalten. Als Beispiel dafür wurde von dem Vortragenden eine zuerst von Stadelmann unter dem Namen Proteïnochromogen beschriebene Substanz angeführt, die höchst wahrscheinlich die Muttersubstanz der Skatolessigsäure und der thierischen Farbstoffe ist und die durch Einwirkung des Pankreasenzyms aus Eiweiss entsteht. Das Proteïnochromogen ist leicht zersetzlich, schwefelhaltig und als solches bis jetzt nicht isolirt, wohl aber aus den Verdauungsgemischen in Form eines Bromsubstitutionsproductes als violetter Farbstoff fällbar. Durch Auflösen des Bromproductes in heissem Barytwasser wird ein charakteristischer Geruch bemerkbar, ähnlich dem, der beim Auflösen von Haaren in Alkalien entsteht. Dabei geht mit fuchsinrother Farbe ein Farbstoff in Lösung, ausgezeichnet durch ein schon von Stadelmann an dem Rohproducte beobachtetes Absorptionsspectrum. Der in Barytwasser unlösliche Theil ist in verdünnter Kalilauge mit braunvioletter Farbe löslich und zeigt spectroskopisch untersucht keinen Absorptionsstreifen. Mit dem sechsfachen Gewichte Kali auf 240 bis 260° erhitzt, wird das Bromproduct in einen bromfreien, aber schwefelhaltigen, schwarzen Farbstoff verwandelt, der die grösste Aehnlichkeit mit den früher von dem Vortragenden und seinen Schülern aus Haaren und melanotischen Sarkomen isolirten Melaninen hat. Bei Anwendung von mehr Alkali und höherer Temperatur wird dieser Farbstoff zerstört und es entstehen ausser Phenol und Skatol ähnliche Producte wie beim Schmelzen der thierischen Melanine mit Alkalihydrat. Nencki ist der Ansicht, dass nicht allein die zahlreichen Farbstoffe in den Haaren der Thiere und dem Gefieder der Vögel, sondern auch der Blutfarbstoff aus dieser chromogenen Gruppe des Eiweissmoleküls gebildet werde. Um allen diesen Thatsachen gerecht zu werden, müsste die Hypothese Schützenberger's über die Constitution des Eiweisses derart erweitert werden, dass von der ursprünglichen Hypothese nicht viel mehr übrig bliebe. Die Theorie Schützenberger's trägt aber keine Rechnung den zahlreichen labilen Formen des Eiweissmoleküls, wie wir sie in dem lebendigen protoplasmatischen Eiweiss, den Enzymen und Toxalbuminen kennen. In einer späteren Sitzung beabsichtigt der Vortragende diese labilen Formen des Eiweissmoleküls eingehender zu besprechen.

Ueber die labilen Eiweissstoffe

von

M. Nencki.

Vortrag in der chemischen Gesellschaft in Bern.
Schweiz. Wochenschr. für Pharm. Nr. 29.

Meinem Versprechen, anlässlich eines früheren, in der Gesellschaft gehaltenen Vortrages „über die krystallinischen Spaltungsproducte des Eiweisses" nachkommend, will ich heute die nächsten Umwandlungsproducte der in thierischen und pflanzlichen Säften oder im Zellinhalt vorkommenden Eiweissstoffe: die Albumosen und Peptone, und im Anschluss daran die Enzyme und Toxalbumine besprechen.

Jedem Physiologen und Arzte ist es bekannt, welche wichtige Rolle gerade diese Umwandlungsproducte des Eiweisses im Stoffwechsel haben. Die in letzter Zeit von den Bacteriologen aufgefundenen Toxalbumine haben von Neuem die Aufmerksamkeit auf diese Gruppe der Eiweissderivate gelenkt, und es tritt an die chemische Forschung die dringende Nothwendigkeit heran, sich mit diesen Körpern zu befassen, selbst auf die Gefahr hin, dass die erzielten positiven Resultate in keinem Verhältniss zu der darauf verwendeten Mühe stehen.

Wenn wir von den zahlreichen Arbeiten früherer Autoren über die Einwirkung sehr verdünnter Mineralsäuren (1 bis 10 pro mille), der Alkalien oder der Verdauungssäfte auf die Eiweisskörper absehen und nur die Resultate der letzten Untersuchungen von W. Kühne [1]) und seiner Schüler näher betrachten, so lassen sich von den eigentlichen Albumosen deren nächste Umwandlungsproducte, d. h. die Peptone, dadurch unterscheiden, dass die letzteren aus ihren Lösungen durch Sättigen mit Ammonsulfat nicht mehr fällbar sind.

Wird Fibrin oder Eiereiweiss mit verdünnter Schwefelsäure zum Kochen erhitzt, so geht ein Theil des Eiweisses in Lösung, der andere bleibt ungelöst. Schützenberger sprach daher die Ansicht aus, dass das Eiweissmolekül durch Kochen mit Säuren in zwei Hälften gespalten werde, wovon die eine in Säuren unlöslich (von ihm Hemiproteïn, von Kühne Antialbumid genannt), die andere in Säuren löslich sei und von Kühne Hemialbumose genannt wird.

Das Antialbumid ist in Essigsäure in jeder Concentration unlöslich, ebenso in Salzsäure von 1 bis 4 pro mille, leicht löslich in Alkalien und wird daraus durch Zufügen von NaCl gefällt. Behandelt man die Antialbumide in Soda mit Trypsin, so wird ein Theil des Antialbumids in Antipepton verwandelt, während die grössere Menge in gallertiger Form abgeschieden wird. Das Antipepton wird weder durch Chlor- noch Bromwasser geröthet, giebt mit Essigsäure und Ferrocyankalium keine Fällung und selbst bei anhaltender Trypsinbehandlung keine Amidosäuren.

[1]) Vergl. hierüber V. Gerlach, Die Peptone. Hamburg u. Leipzig 1891.

Bezüglich der Hemialbumose unterscheiden Kühne und Chittenden vier Modificationen derselben, die sie folgendermaassen charakterisiren:

I. Protalbumose. Durch festes Kochsalz im Ueberschuss fällbar, in kaltem und heissem Wasser löslich.

II. Deuteroalbumose. Durch Kochsalzüberschuss nicht, dagegen durch Kochsalz + Säuren fällbar; in reinem Wasser löslich.

III. Heteroalbumose. Durch Kochsalzüberschuss fällbar; in kaltem und siedendem Wasser unlöslich, dagegen in verdünntem sowie in concentrirtem Salzwasser löslich.

IV. Dysalbumose, wie Heteroalbumose, aber auch in Salzwasser unlöslich.

Die Stoffe der Hemigruppe werden entweder durch Kochen des Eiweisses mit verdünnter Schwefelsäure oder durch Pepsinverdauung erhalten. Das Kochen mit Säure liefert viel Hemipepton und nur wenig Hemialbumose; bei der Verdauungsmethode ist dieses Verhältniss umgekehrt. Wird jedoch die Verdauung nicht zeitig unterbrochen, so gehen die Hemialbumosen in das Hemipepton über. Bezüglich der elementaren Zusammensetzung haben die Albumosen einen höheren Kohlenstoffgehalt als wie die daraus entstandenen Peptone. Kühne und Chittenden erhielten für die aus Eieralbumin dargestellten Präparate folgende Zahlen:

	Antialbumid:	Antipepton:
C	53.79 Proc	49.87 Proc.
H	7.08 „	6.89 „
N	14.55 „	15.21 „
	Hemialbumose:	**Hemipepton:**
C	50.96 Proc.	49.38 Proc.
H	6.85 „	6.81 „
N	15.88 „	15.07 „

Nach den Analysen von V. Gerlach[1]) enthält das Antialbumid aus Eiereiweiss 15.38 Proc. N und das Antipepton 16.19 Proc. N. Die Hemialbumose aus Fibrin 17.42 Proc. N und das Hemipepton 16.84 Proc. N.

Die durch schwefelsaures Ammon nicht mehr fällbaren Peptone haben nicht mehr den gleichen Nährwerth wie die Acid- resp. Alkalialbuminate und die Hemialbumosen. Gerlach fütterte Hunde mit stickstofffreier Reisstärke, Fett und Salz, und die Gesammteiweissmenge wurde den Thieren in Form von Albumosen zugeführt. Die Albumosen wurden von den Thieren gut vertragen und wie Eiweiss umgesetzt. Als er den gleichen Versuch statt mit Albumosen mit aus Fibrin durch Trypsin-Sodalösung hergestelltem Antipepton anstellte, erbrachen die Thiere das Futter. Ein Hund, der nach Eingabe von 15 g nicht erbrochen hatte, erkrankte innerhalb 24 Stunden an heftigen, blutigen Diarrhoeen. Schon früher fanden bekanntlich Fano und Schmidt-Mühlheim, dass Injectionen von 0.3 g Pepton per Kilo Körpergewicht für die Hunde toxisch sind und die Gerinnbarkeit des Blutes aufheben. Ob die durch Ammonsulfat nicht mehr fällbaren, in vitro dargestellten Peptone im menschlichen, resp. Thierkörper durch die Magen- und Dünndarmverdauung

[1]) Die Peptone von Dr. V. Gerlach. S. 45.

entstehen, ist nicht bewiesen und auch nicht wahrscheinlich; zum mindesten ist die gebildete Menge bei lebenden Thieren sehr gering.

Wie aus der obigen Auseinandersetzung ersichtlich, entstehen aus einer einheitlichen Substanz, wie z. B. aus Fibrin, verschiedene Albumosen, und es ist nicht wahrscheinlich, dass die z. B. aus Eiereiweiss erhaltenen Albumosen mit denen aus Fibrin identisch sind. Die Zahl der aus den verschiedenen thierischen, pflanzlichen und bacteriellen Albuminen entstehenden Albumosen und Peptone dürfte daher eine sehr grosse sein.

In welchem Verhältnisse zu diesen Eiweissderivaten stehen nun die Toxalbumine und Enzyme, und wie ist das Verhältniss der beiden letzten Körpergruppen zu einander?

Der Begriff einer toxischen Wirkung ist ein weiter. Es ist seit langem bekannt, dass Eier- oder Serumeiweiss, in die Blutbahn injicirt, Albuminurie zur Folge hat und vor Kurzem zeigte Buchner [1]), dass nicht allein die in den Bacterienzellen vorkommenden Eiweissstoffe, sondern auch z. B. das uns alltäglich im Brote als Nahrung dienende Glutencaseïn nach subcutaner Injection mehr oder weniger intensive Lymphangitis hervorrufen.

Abgesehen von den eigentlichen und nach subcutaner Injection relativ nur wenig giftigen Eiweissstoffen giebt es sowohl bei den Thieren und Pflanzen, sowie Spaltpilzen Toxalbumine, die die stärksten bekannten krystallinischen Gifte, wie Strychnin, Morphin u. dergl. m. in Bezug auf ihre toxische Wirkung bei weitem übertreffen. So treten R. Norris Wolfenden [2]), ferner Weir Mitchell und E. Reichert [3]) dafür ein, dass die Schlangengifte, wie der indischen Viper, der Brillenschlange, der Klapperschlange und anderer mehr zu den Toxalbuminen gehören. In trockenem Zustande können sie sogar auf 115°, ohne ihre Wirksamkeit einzubüssen, erhitzt werden. Der giftige Stoff sei aus dem Secrete durch schwefelsaure Magnesia fällbar. Feuchte Wärme schwächt das Gift ab. Vom Magen aus wirken die Viperngifte nur dann, wenn derselbe leer ist. Besonders das leicht diffusible Cobragift. Nach A. Mosso [4]) enthält das Blutserum der Muräniden ein Toxalbumin, dessen Wirkung dem Viperngift analog ist. Auf 100° erwärmt, verliert es seine giftigen Eigenschaften; unter der Luftpumpe eingetrocknet behält es sie. In Alkohol von 90 Proc. ist es unlöslich. Das Serum mittelst einer Pravaz'schen Spritze durch die Bauchwand in den Dünndarm injicirt, führt den Tod herbei, in den Magen gebracht, ist es unschädlich. Der Magensaft, die Essigsäure und die Salzsäure zerstören den giftigen Bestandtheil des Serums. Auch das Gift der giftigen Spinnen ist nach den Untersuchungen Kobert's [5]) ein Toxalbumin.

Dass gleich giftige Toxalbumine auch in den Pflanzen vorkommen, haben schon im Jahre 1884 Bruylants und Vennemann [6]) bezüglich der Jequiritysamen gezeigt.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 47.
[2]) Maly's Jahresbericht über die Thierchemie **16**, 351.
[3]) Ebenda **17**, 332.
[4]) Ebenda **18**, 92.
[5]) Ebenda **18**, 241.
[6]) Encyklopädische Jahrbücher der gesammten Heilkunde, herausgeg. von Eulenburg. 1. Jahrg. Wien 1891. Art. Abrusgift.

Ein Toxalbumin als Product der Bacterien ist zuerst von Roux und Yersin[1]) aus den Diphteriebacillen erhalten worden und vor Kurzem haben Vaillard und Vincent[2]) nachgewiesen, dass, entgegengesetzt der ursprünglichen Angabe Brieger's, der giftige Stoff der Tetanusbacillen kein krystallinisches Ptomaïn, sondern ein Albuminstoff sei.

In Bezug auf ihre Eigenschaften haben die Toxalbumine mit den Enzymen viel Gemeinschaftliches. Verdünnte Säuren, Alkalien, Metallsalze, Licht heben nach mehr oder weniger kurzer Einwirkung ihre toxische Wirkung auf. Durch Alkohol werden sie aus ihren wässerigen Lösungen gefällt, und längere Zeit damit in Berührung gelassen, verlieren sie ebenfalls ihre giftige Wirkung. Wärme über 50° macht die meisten Toxalbumine ebenfalls unwirksam, doch giebt es einige, welche Temperaturen von 60, 80, ja sogar kurzes Erwärmen auf 100° vertragen. So z. B. die Viperngifte und das Toxalbumin der Tuberkelbacillen. Dieser Umstand lässt vermuthen, dass diejenigen giftigen Proteïne, die Erwärmen auf 50° nicht vertragen, zu den echten Eiweissstoffen gehören. Andere dürfte man den Albumosen zuzählen, noch andere, wie z. B. die leicht diffusiblen Schlangengifte, die auch durch Erwärmen auf 100° nicht unwirksam gemacht werden, dürften auch in ihren übrigen Eigenschaften den Peptonen angehören. Scharfe Unterschiede sind hier nicht zu erwarten, und auch der Uebergang zu wohl charakterisirten, krystallinischen Ptomaïnen wird wohl durch eine Reihe von Zwischenstufen vermittelt. Andererseits ist es wohl möglich, dass einzelne Enzyme und Toxalbumine Verbindungen von Eiweiss mit Kohlehydraten, nach Art der thierischen Schleimstoffe, oder auch anderer Atomgruppen sind.

Ausser der Unbeständigkeit und gleichem Verhalten gegen Wärme und chemische Agentien gleichen die Enzyme den Toxalbuminen auch darin, dass sie nach subcutaner Injection oder von der Blutbahn aus mehr oder weniger giftig wirken. Die giftige Wirkung der Enzyme auf den Organismus ist namentlich von Bergmann und Angerer[3]) und vor Kurzem von Hildebrandt[4]) untersucht worden, und es ist nicht zu bezweifeln, dass die Allgemeinwirkung der Toxalbumine und Enzyme auf den Organismus die gleiche ist. In erster Linie tritt Oedem auf, dann Fibringerinnung, Verstopfung der Blutgefässe, Stauung des venösen Blutes und dadurch bedingte geringe Füllung des linken Herzens und Sinken des Blutdruckes. Dazu kommen noch die Affectionen von Seiten des Darmcanals. Ausserdem haben einzelne Toxalbumine ihre specifische Wirkung auf das Nervensystem, welche, wie z. B. bei dem Tetanusgift, in den Vordergrund treten. Interessant ist die Beobachtung von Koch, dass das Gift der Tuberkelbacillen viel heftiger auf bereits tuberculös Erkrankte, als wie auf Gesunde einwirke, eine Thatsache, die auch von Helmann in Petersburg mit Rotzgift an Pferden beobachtet wurde. Ich bin der Meinung, dass, wenn Koch genauere Kenntniss von der chemischen Natur des wirksamen Principes in seiner Lymphe gehabt und andererseits die Arbeiten von Bergmann und Angerer, sowie Hildebrandt gekannt hätte, er schwerlich seine Lymphe als ein Mittel gegen

[1]) Annales de l'Institut Pasteur. Jahrg. **2**, 1888, S. 642.
[2]) Ebenda, Jahrg. **5**, 1891.
[3]) Festschr. d. 300jähr. Bestehens d. Univers. Würzburg 1882.
[4]) Virchow's Arch. **121** (1890).

die Tuberculose empfohlen haben würde. Herr Dr. Martin Hahn hat in meinem Laboratorium aus der Koch'schen Lymphe den wirksamen Stoff isolirt und als Toxalbumose charakterisirt. Die Lymphe wird mit Alkohol gefällt, der Niederschlag in Wasser gelöst und die Lösung mit Ammonsulfat gesättigt; dabei fällt die giftige Albumose anfangs flockig, später als klebrige, an den Wänden haftende Masse aus. Spuren dieser Albumose in Wasser gelöst und subcutan injicirt, rufen bei Gesunden und in noch geringeren Mengen bei Lupuskranken die typischen, von Koch beschriebenen Vergiftungserscheinungen hervor. Herr Dr. Hahn[1]) wird später an einem anderen Orte ausführlich über seine Versuche berichten. Der Begriff der Enzyme ist ein weiterer; denn alle Enzyme sind mehr oder weniger toxisch, aber die wenigsten Toxalbumine wirken hydrolytisch. Es ist eine wunderbare Einrichtung in unserem Organismus, dass die so giftigen Enzyme, wie z. B. das Trypsin des pankreatischen Saftes, ähnlich wie die Toxalbumine und Albumosen schon in der Wandung des Verdauungscanals in ungiftige Modification übergeführt werden und so ihre schädliche Wirkung in der Blutbahn nicht zur Geltung kommt.

Ob die Enzyme und Toxalbumine wirklich Eiweisskörper oder deren nächste Derivate sind, oder überhaupt gar nicht zu den Eiweisskörpern gehören, darüber ist, seitdem man die Enzyme als sogenannte lösliche Fermente von den einzelligen Organismen zu unterscheiden gelernt hat, viel gestritten worden. Um sich hierüber Gewissheit zu verschaffen, habe ich das am leichtesten zugängliche Toxalbumin der Jequiritysamen — das Abrin — näher untersucht. Dass der giftige Stoff dieser Samen ein Eiweisskörper sei, haben schon, wie oben erwähnt, im Jahre 1884 Bruylants und Vennemann gesehen. Der giftige Stoff wurde später noch von Warden und Weddell untersucht und Abrin genannt. Nach einer letzten Untersuchung von Sidney Martin enthalten die Jequiritysamen zwei giftige Proteïde, ein Globulin und eine Albumose. Durch Ausziehen der von der Rinde befreiten und zerkleinerten Samen mit 4 Proc. Kochsalzlösung, Filtriren durch Chamberland'sche Filter und Verdunsten der Lösung im Vacuum wurde in meinem Laboratorium von Frl. Dr. Sophie Glinka[2]) die giftige Globulinsubstanz dargestellt. Durch Ansäuern mit Essigsäure und Eintragen von Steinsalz wird das Globulin aus der concentrirten Lösung gefällt. Der Dialyse unterworfen, bleibt das Globulin zurück, während die Albumosen und krystalloiden Producte diffundiren. Die Versuche mit der sterilen Lösung des Globulins bestätigten alle Angaben von Sidney Martin, so dass bezüglich der Eiweissnatur dieses Toxalbumins ich keinen Zweifel hege.

Als nächste Aufgabe der biologischen Chemie betrachte ich die Erforschung der Ursachen, die es bedingen, dass einzelne Eiweisssubstanzen, wie das Fibrin, Caseïn, Alkali- und Acidalbumine relativ beständig, andere aber, wie gerade die Toxalbumine und Enzyme, zu den labilsten, unbeständigsten, chemischen Körpern gehören. In dem Verhalten gegen Wärme, Licht, Säuren, Alkalien, Mineralsalze, Alkohol u. s. w. zeigen diese labilen Eiweissmodificationen die grösste Aehnlichkeit mit dem protoplasmatischen Eiweiss der lebendigen Zellen, von welchen Pflüger, Loew und Bokorny und ich schon vor mehr als 10 Jahren behauptet haben, dass

[1]) Siehe unten.

[2]) Ebenda.

es eine andere, als wie in den todten Zellen, und zwar labile Constitution haben müsse. In meinen Untersuchungen über die physiologische Oxydation habe ich gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) gezeigt, dass Eiweissstoffe in sehr verdünnten, alkalischen Lösungen an der Luft langsam Sauerstoff absorbiren. Ohne fortdauernde Sauerstoffaufnahme ist das Leben lebendiger Organismen nicht möglich. In reiner Wasserstoff- oder Stickstoffatmosphäre gehen einzellige Organismen unter Trübung, Vacuolenbildung und schliesslich Zerfall in kurzer Zeit zu Grunde. Es wird von Interesse sein, das Verhalten auch der Enzyme und Toxalbumine — dieser „Gruppen in Bewegung" — gegen Sauerstoff und andere Gase zu untersuchen. Die Erforschung der Enzyme und Toxalbumine wird auch die nähere Kenntniss des lebendigen, protoplasmatischen Eiweisses und damit der Erscheinungen, die man als Leben bezeichnet, zur Folge haben.

Durch welche Atomgruppirung wird das labile Molekül, wie wir es bei den Toxalbuminen, Enzymen und protoplasmatischem Eiweiss kennen, bedingt? Ausgehend von der Beobachtung von Loew und Bokorny, wonach das lebendige protoplasmatische Eiweiss der Spirogyren eine aldehydische Structur habe, wurden in meinem Laboratorium verschiedene Enzyme und Toxalbumine auf ihr Verhalten gegen das Loew'sche Reagens (eine sehr verdünnte alkalische Silberoxydlösung) geprüft; meistens mit negativem Resultate. Nur bei den Cholerabacillen fand Dr. Macfadyen ein wie Trypsin Eiweiss verdauendes und auch Stärke verzuckerndes Enzym, dass das Loew'sche Reagens reducirte. Ausser den Aldehyden und Ketonen kennen wir in der organischen Chemie eine Reihe labiler Gruppirungen der Atome, wie z. B. die Cyankörper, die sogenannten ungesättigten Verbindungen, die Azine, die mehrfach hydroxylirten Benzolderivate, wie z. B. das Pyrogallol und die mehrfach hydroxylirten Naphtaline. Die Auffindung neuer labiler Atomgruppirungen wird für den physiologischen Chemiker stets ein besonderes Interesse haben.

Schliesslich möchte ich noch über einige therapeutische Versuche mit sterilen Lösungen der Enzyme berichten. Es wurde hauptsächlich mit Trypsin, dann aber auch mit Pepsin und Papayotin experimentirt. Nach vorausgegangenen Versuchen an Thieren, bezüglich der Dosirung, wurden beim Menschen zunächst bei bösartigen Geschwülsten, wie Carcinomen und Sarkomen, in der Absicht, eine Erweichung und Auflösung der Geschwulst hervorzurufen, subcutane Trypsininjectionen angewendet. Der bisherige Erfolg war sehr gering. Auch bei Infectionskrankheiten der Thiere und Menschen waren die Trypsininjectionen von zweifelhaftem Nutzen. Nur in zwei Fällen von Milzbrand bei Menschen erfolgte rasche Heilung. Doch lege ich keinen grossen Werth darauf, da der gleiche Erfolg durch Injectionen von Phenol- oder Jodlösung ebenfalls erzielt werden kann. Die Untersuchungen hierüber, obgleich seit mehr als einem Jahre in meinem Laboratorium und in den hiesigen Kliniken daran gearbeitet wird, sind nicht abgeschlossen und bei der Schwierigkeit der Herstellung der Präparate und Aussuchung passender Fälle können sie nur langsam fortgesetzt werden.

[1]) Journ. prakt. Chem. 26, Jahrg. 1882. — Nencki's Opera omnia 1, 643.

Die isomeren Milchsäuren als Erkennungsmittel einzelner Spaltpilzarten

von

M. Nencki.

Centralblatt f. Bacter. u. Parasit. **9**, 304. — Gazeta Lekarska Nr. 14.

In den Wiener Akademieberichten [1]) habe ich gemeinschaftlich mit N. Sieber die Beobachtung veröffentlicht, dass wir in den Geschwülsten der mit Rauschbrand inficirten Meerschweinchen ausser den Rauschbrandbacillen auch einen facultativ anaëroben Mikrococcus fanden, welcher Traubenzucker vergährt, wobei aber als Hauptproduct nicht die inactive, sondern die das polarisirte Licht nach rechts drehende, mit der aus Fleisch erhaltenen identische Milchsäure entsteht, weshalb wir diesen Mikrococcus: Mikrococcus acidi paralactici benannten. Seither sind wir wiederholt Spaltpilzen begegnet, die aus Kohlehydraten die optisch active Milchsäure bilden. Von Dr. Sieber wurde unter den Gährungsproducten der Glucose, durch einen von Dr. Freudenreich im Käse gefundenen Bacillus, active Milchsäure erhalten (Annales de Micrographie 1889, p. 1), und gelegentlich unserer Untersuchung „über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm" [2]), wobei noch die im Ileum vorkommenden Mikroben berücksichtigt wurden, fanden wir, dass unter sechs Zucker vergährenden Spaltpilzarten drei die optisch active Säure bilden.

Vor Kurzem hat Dr. F. Schardinger (Wiener Akademieberichte, Sitzung vom 4. December 1890) in einem sanitär beanstandeten Wasser ein Kurzstäbchen gefunden, das Rohrzucker und Dextrose unter Bildung von Milchsäure vergährt. Die erhaltene Milchsäure hat alle chemischen Eigenschaften der Para- oder Fleischmilchsäure, und ihre Salze haben auch dieselbe Zusammensetzung, d. h. das Zinksalz $(C_3H_5O_3)_2Zn$ krystallisirt mit 2 Mol. H_2O, das Calciumsalz mit $4^1/_2$ Mol. H_2O. Optisch dagegen zeigen die Säure und ihre Salze einen gegensätzlichen Unterschied zur bekannten Paramilchsäure; während nämlich letztere die Polarisationsebene rechts als Anhydrid, in ihren Salzen aber links dreht, dreht umgekehrt die von Schardinger erhaltene Säure im freien Zustande in wässeriger Lösung links als Anhydrid, in den Salzen aber rechts. Er erkannte daher in seiner Säure die bisher unbekannte optisch linksdrehende Säure und nennt sie Linksmilchsäure. Schardinger hat ferner festgestellt, dass durch Mischung von molekularen Mengen des neuen milchsauren Zinks mit paramilchsaurem Zink ein Zinklactat erhalten wird, welches inactiv ist, mit 3 Mol. H_2O krystallisirt, und daher mit dem bis dahin als

[1]) Monatshefte für Chem. **10**, 532. — Dieser Band S. 131.

[2]) Siehe die folgende Arbeit.

„gährungsmilchsaures Zink" bezeichneten Salze identisch ist. Es sind dies also Verhältnisse, wie wir sie bei der Weinsäure und anderen organischen Verbindungen kennen und die durch das asymmetrische Kohlenstoffatom in der Aethylidenmilchsäure bedingt sind.

Da die meisten facultativen, sowie obligaten Anaëroben, welche Kohlehydrate vergähren, daraus in wechselnden Mengen Milchsäure bilden, so erwächst bei bacteriologisch-chemischen Untersuchungen die Nothwendigkeit, nicht allein zu constatiren, dass eine bestimmte Spaltpilzspecies Zucker in Milchsäure umwandelt, sondern auch genau anzugeben, ob die entstandene Säure die optisch inactive oder die Rechts- resp. Linksmilchsäure ist. Anlässlich der oben citirten Arbeit isolirten wir aus dem menschlichen Dünndarminhalt ein Kurzstäbchen, das in seinem ganzen Verhalten die grösste Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli commune hatte. Die in unserem Laboratorium von Dr. Bischler genau ausgeführte Untersuchung der Gährungsproducte aus Zucker durch die beiden Mikroben belehrte uns aber, dass sie nicht identisch sind. Das Bacterium coli commune bildet aus Glucose die Rechtsmilchsäure, das aus dem Ileum isolirte Bacterium, das wir Bacterium Bischleri nennen, die optisch inactive Milchsäure. Einzig und allein durch diesen Befund wurde die Verschiedenheit der beiden Spaltpilze bewiesen; denn dass ein und derselbe Mikrobe stets die gleiche Milchsäure bildet, das haben wir bei dem Mikrococcus acidi paralactici in mehr als ein Dutzend Gährversuchen gesehen. Selbst als wir in einem Falle Glucose durch ein Gemenge von Rauschbrandbacillen, die daraus die inactive Milchsäure bilden und den Mikrococcus der Paramilchsäure vergähren liessen, erhielten wir nach vollendeter Gährung ein Gemisch, aus der optisch inactiven und der Rechtsmilchsäure bestehend.

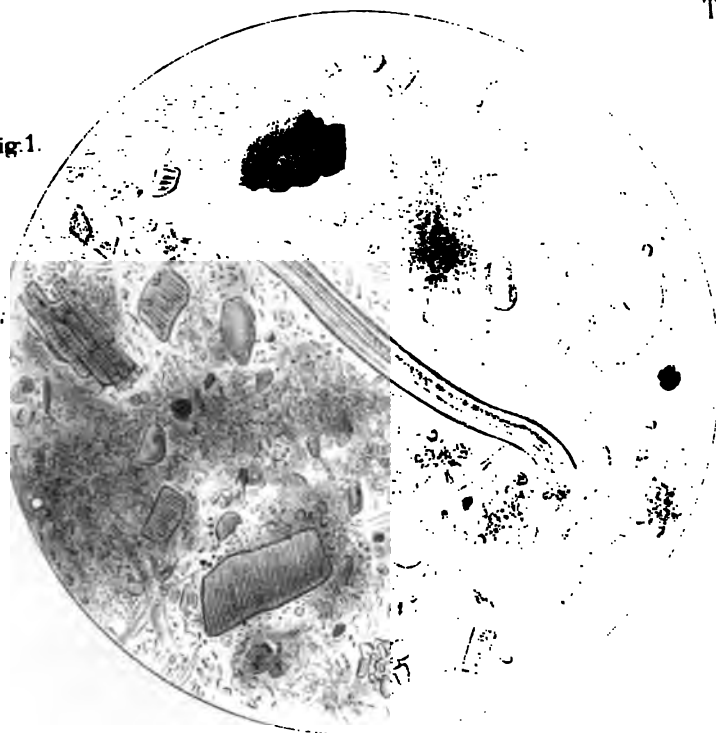
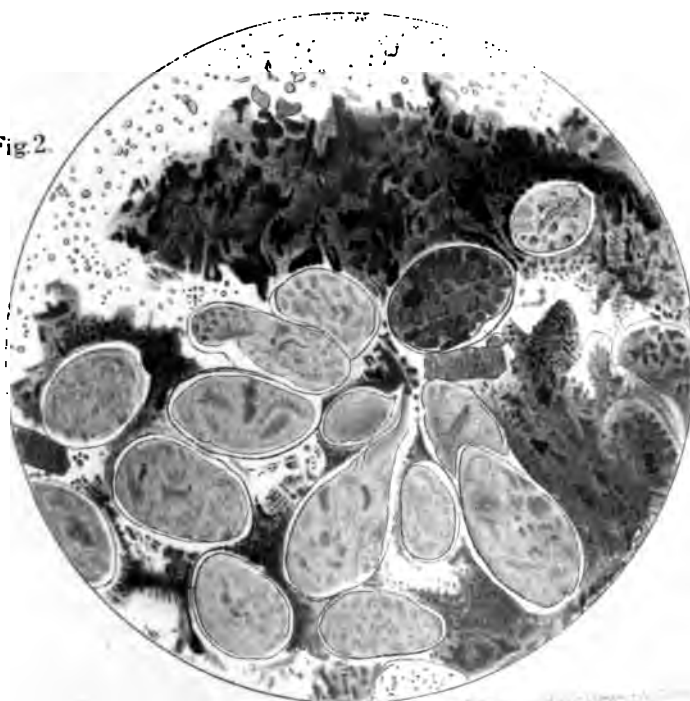
Um die Zersetzungsproducte der Kohlehydrate durch Bacterien zu ermitteln, hat sich nach Versuchen in meinem Laboratorium folgendes Verfahren als das zweckmässigste erwiesen:

In einem Liter Rinderbouillon oder 1 proc. Lösung von Pepton-Chapoteau werden 50 bis 80 g des zu untersuchenden Kohlehydrates, Glycerins oder mehratomigen Alkohols gelöst — für gewöhnlich werden die ersten Versuche mit dem käuflichen, krystallisirten, sogenannten amerikanischen Traubenzucker gemacht —, sodann auf je ein Liter der Lösung 20 bis 30 g schwach geglühter, kohlensaurer Kalk gegeben und die Flüssigkeit durch Erhitzen im Autoclaven während 20 Minuten auf 115° sterilisirt, nach dem Erkalten geimpft und der Kolben entweder mit Wattepfropf bei Bruttemperatur stehen gelassen, oder, falls der Versuch anaërobiotisch ausgeführt werden soll, mit sterilisirtem, doppelt durchbohrtem und mit Zu- und Ableitungsrohr versehenem Kautschukkork verschlossen. Die Luft wird durch Kohlensäure oder Stickstoff ausgetrieben und der Kolben bei Bruttemperatur gelassen. Nach etwa zwei Wochen bei Luftzutritt, und — da die anaërobiotischen Gährungen, wenn auch anfangs manchmal stürmisch, später doch langsamer verlaufen — nach ungefähr doppelt so langer Zeit bei Luftausschluss, wird der Kolbeninhalt zunächst auf die Reinheit der Cultur mikroskopisch untersucht, in einer Probe der Flüssigkeit der Gehalt an unzersetztem Zucker titrimetrisch bestimmt, hierauf die Lösung vom Bodensatz abgegossen und mit Oxalsäurelösung im Ueberschusse gefällt. Der Bodensatz

besteht manchmal nicht allein aus Kalkcarbonat, sondern enthält auch bernsteinsauren Kalk. Er wird daher in wenig Salzsäure gelöst und die Bernsteinsäure durch Alkoholäther (2 Theile Aether, 1 Theil Alkohol) daraus extrahirt.

Nachdem der gelöste Kalk durch Oxalsäure vollkommen ausgefällt worden, wird die vom Kalkoxalat filtrirte Lösung destillirt, wobei sowohl flüchtige Fettsäuren als wie Alkohole in das Destillat übergehen. Das Destillat wird bis zur schwach alkalischen Reaction mit Soda versetzt und destillirt. Die flüchtigen Fettsäuren bleiben als Natronsalze zurück und nur die Alkohole gehen mit den Wasserdämpfen über. Die verflüchtigten Alkohole werden durch wiederholte Destillation concentrirt, schliesslich mit gebrannter Pottasche ausgesalzen, über Aetzkalk getrocknet und rectificirt.

Der von flüchtigen Fettsäuren und Alkoholen befreite Retortenrückstand wird auf dem Wasserbade bis zur syrupösen Consistenz eingedampft und mit Aether extrahirt. In den Aether geht überschüssig zugesetzte Oxalsäure, die Milchsäure und die etwa vorhandene Bersteinsäure über. Nach Abdestilliren des Aethers hinterbleibt ein syrupöser Rückstand, der durch Kochen mit wenig Wasser unter Zusatz von Thierkohle entfärbt und sofort polaristrobometrisch untersucht werden kann. Durch Kochen mit Zinkhydroxyd bleibt von den drei Säuren die Oxalsäure als im Wasser unlösliches Zinkoxalat zurück und aus dem heissen Filtrate kann das schwerlösliche, bernsteinsaure Zink von dem viel leichter löslichen Zinklactat dadurch getrennt werden, dass das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet und der Rückstand aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt wird, wobei das bernsteinsaure Zink ungelöst zurückbleibt. Ist keine Bernsteinsäure vorhanden, so hat man im Filtrate vom Zinkoxalat nur das milchsaure Zink, das dann durch Umkrystallisiren aus Wasser eventuell unter Zusatz von Thierkohle leicht analytisch rein erhalten wird. War der saure Aetherauszug optisch activ, so ist auch ein Zinklactat mit 12.9 Proc. Krystallwasser zu erwarten. Die völlige Gewissheit über die Natur der Milchsäure giebt die polaristrobometrische Untersuchung des Zinksalzes. Da die Drehung der kalkgesättigten Lösung des Salzes nur eine schwache ist — in einer 2 dcm langen Schicht etwa zwei Drittel eines Grades — so ist auf möglichst farblose Lösung des Salzes zu achten. Wie ich schon oben erwähnte, bilden die rein gezüchteten Mikroben stets die gleiche Milchsäure; dagegen habe ich die Beobachtung gemacht, dass einzelne Spaltpilze, wie z. B. der Mikrococcus acidi paralactici, längere Zeit auf den festen Nährböden, wie Gelatine oder Agar cultivirt, allmählich ihre Gährtüchtigkeit verlieren, d. h. sie zersetzen mit der Zeit ceteris paribus viel geringere Mengen des Zuckers. Es verhält sich also mit der Gährtüchtigkeit ähnlich, wie mit der Abnahme der Virulenz verschiedener pathogener Spaltpilze.

Bern, 5. Februar 1891.

Tafel II.

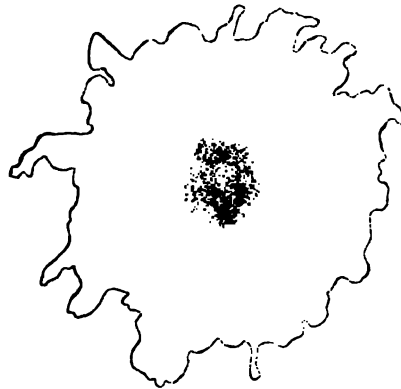
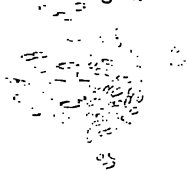
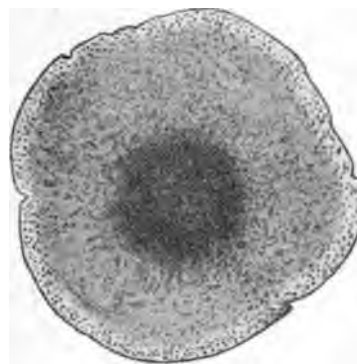
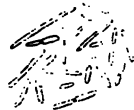
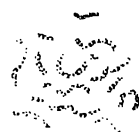



Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3a.
Fig. 1a.
Fig. 3b.
Fig. 1b.
Fig. 4a.
Fig. 2b.
Fig. 4b.
Fig. 2a.
Fig. 5a.
Fig. 5b.
Fig. 6.
Fig. 7.

Untersuchungen über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm

von

A. Macfadyen, M. Nencki und **N. Sieber.**

(Hierzu Tafel II u. III.)

Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **28**, 311. — Journ. of Anatomy and Physiology **25**, 390. — Gazeta Lekarska Nr. 39 bis 42. — Kurze Mittheilung von A. Macfadyen „Ueber die Bacterien im menschlichen Dünndarm". Schweiz. Wochenschr. f. Pharm. Nr. 12.

Wir besitzen ziemlich zahlreiche Analysen der Galle, des pankreatischen und des Darmsaftes. Vom letzteren, abgesehen von den älteren von Frerichs, Zander u. A., auch mehrere neueren Datums, nachdem Vella das ältere Thiry'sche Verfahren zur Anlegung der Darmfistel verbessert hat. Es fehlt auch nicht an zahlreichen Versuchen in vitro über die Einwirkung dieser Säfte auf die Nahrungsstoffe. Wie aber in vivo diese Processe sich abspielen, sind seit der für die damalige Zeit ausgezeichneten Arbeit von Tiedemann und Gmelin[1]) bis jetzt nur wenige und unvollständige Beobachtungen vorhanden, welche meistens an Thieren, zum Theil aber auch an Menschen mit Darmfistel gemacht wurden. Durch die Freundlichkeit von Prof. Kocher kamen wir in die glückliche Lage, die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm längere Zeit hindurch untersuchen zu können. Auf der chirurgischen Universitätsklinik in Bern wurde im Mai 1890 eine Frau wegen eingeklemmter Hernie operirt, wobei wegen Gangrän des eingeklemmten Darmstückes und hochgradiger Entzündung das gangränöse Darmstück entfernt und ein Anus praeternaturalis angelegt werden musste. Das eingeklemmte und excidirte Darmstück war gerade das in das Coecum einmündende Ende des Ileum. Aus der Fistelöffnung floss der Speisebrei, nachdem er der Einwirkung der ganzen Dünndarmschleimhaut unterworfen war, statt in den Dickdarm, nach aussen. Es bot sich daher unseres Wissens zum ersten Male beim Menschen die Gelegenheit, die Vorgänge im ganzen Dünndarm zu studiren; denn bei den früheren in der Literatur verzeichneten Fällen von Dünndarmfistel war man nie sicher, an welcher Stelle desselben sie war und in welchem Grade und Umfange der Speisebrei in dem unterhalb der Fistel liegenden Darmtheile verändert worden war. Es ist klar, dass die exacte Kenntniss der Verdauungsvorgänge am besten am Lebenden ermittelt werden kann; nicht minder auch, dass es von hoher Wichtigkeit ist, die Veränderungen der Nahrungsstoffe in den einzelnen, anatomisch verschiedenen Abschnitten des Verdauungsschlauches gesondert zu untersuchen. Es müssen dadurch Gesichtspunkte gewonnen werden, welche auch für die Therapie der Darmerkrankungen maassgebend sein können. Diese Erwägung

[1]) Die Verdauung nach Versuchen. Leipzig u. Heidelberg 1828.

war es, die uns bei der nachfolgend zu beschreibenden Untersuchung leitete. Wir benutzen hierbei die Gelegenheit, Herrn Prof. Kocher, der uns zuerst auf diesen Fall aufmerksam machte, sowie dem ersten Assistenten der chirurgischen Klinik, Herrn Dr. Lanz, für die liebenswürdige Unterstützung und die möglichste Berücksichtigung unserer Wünsche bezüglich der Patientin aufrichtig zu danken. Wir waren ferner in der angenehmen Lage, auch finanziell bei diesen Untersuchungen aus dem „Elisabeth Thompson Science Fund in Boston“ unterstützt zu werden und benutzen gern diese Gelegenheit, dem Board of Trustees dieser schönen Stiftung unseren besten Dank auszusprechen.

Magdalene Spycher, eine kleine magere, 62 Jahre alte und nur 40 kg schwere Bauernfrau von Könitz bei Bern wurde wegen eingeklemmten Bruches am 16. Mai 1890 in die chirurgische Klinik aufgenommen und am gleichen Tage von Dr. Tavel operirt. Schon das Unterhautzellgewebe war zum Theil nekrotisch, der Bruchsack völlig nekrotisch, ebenso der in demselben befindliche Netzklumpen, die vorliegende Darmschlinge gangränös. Es fand sich eine längliche Perforation im Darm und es stellte sich heraus, dass die vorliegenden Schlingen Coecum und Ileum waren. Das Zusammennähen vom Dünndarm mit dem Dickdarm bei den schon bestehenden hochgradig entzündlichen Erscheinungen wäre entschieden gefährlich gewesen; darum wurde das Gangränöse einfach entfernt und ein Anus praeternaturalis angelegt. Das excidirte Dünndarmstück war 10 cm lang, das Stück aus dem Coecum etwa 3 cm. Die Wunde verheilte rasch, schon am nächsten Tage erfreute sich die Patientin des besten Wohlbefindens, kein Zeichen von Peritonitis. Temperatur andauernd normal, reichlicher Abgang von breiigem Koth aus der Ileumfistel. Drei Tage später, am 19. Mai, Abgang von hartem Stuhl per anum. Aus dem Ileum entleert sich reichlich diarrhoeischer Stuhl, weshalb Opiumtinctur verabreicht wurde. Patientin hat guten Appetit und befindet sich wohl. Am 4. Juni erhält sie wegen diarrhoeischer Entleerungen aus dem Ileum Decoctum Ratanhiae, worauf die Massen consistenter werden. Vom 5. Juni ab erhält die Patientin eine abgewogene, von ihr selbst gewählte Kost, aus folgender täglicher Ration bestehend:

Brot . . . . 260 g
Fleisch . . . . . . 100 „
Griesbrei . . . . . 200 „
Pepton . . . . . . 20 „ (Kemmerich)
Zucker . . . . . . 60 „
Milch . . . . 100 „
Bouillon . . . . . . 1050 „
2 Eier.

Auf die einzelnen Mahlzeiten vertheilt sich die Ration wie folgt:

Morgens 7 Uhr: 350 g Kaffeeaufguss mit 50 g Milch und 1 Milchbrot (85 g) und 10 g Zucker.

Morgens 10 Uhr: 350 g Bouillon, 1 Ei und $^1/_2$ Milchbrot.

Mittags 12 Uhr: 350 g Bouillon, 10 g Pepton, 100 g gehacktes Fleisch, $^1/_2$ Milchbrot, 200 g Griesbrei mit 10 g Zucker.

3 Uhr: 350 g Theeaufguss mit 50 g Milch, 10 g Zucker, $^1/_2$ Milchbrot.

Abends 6 Uhr: 350 g Bouillon, 10 g Pepton, 1 Ei und $^1/_2$ Milchbrot.

Als Getränk im Tage erhält sie 200 g Wein, 200 g Wasser und 20 g Zucker. Für die Nacht 150 g Grog mit 10 g Zucker.

In die Fistelöffnung wurde ein kurzes Schlauchstück, das täglich mit Wasser ausgespült und gereinigt wurde, eingeschoben, der herausfliessende Darminhalt in einer Flasche gesammelt und uns zur Untersuchung zugestellt. Ebenso wurde die

24 stündige Harnmenge täglich untersucht und darin der Harnstoff nach der Hüfnerschen Methode bestimmt. Wir hatten so Gelegenheit, den Dünndarminhalt zu sammeln und nach verschiedenen Richtungen zu untersuchen. Wir beschreiben zunächst dessen äussere Eigenschaften und gehen dann zur Bestimmung seiner einzelnen Bestandtheile über.

Was zunächst die Menge der aus dem Ileum in das Coecum übergehenden Massen betrifft, so ist dieselbe von der Consistenz derselben abhängig. Bei der obigen, vorwiegend animalischen Nahrung waren die Massen dünnbreiig, durchschnittlich aus 5 Proc. festem Rückstand und 95 Proc. Wasser bestehend. Sie hatten das Aussehen von diarrhoeischen Stuhlgängen, und es wurden auch wiederholt von den Aerzten obstipirende Mittel verordnet. Bei wiederholten Versuchen, wo der Patientin vegetabilische Nahrung — Erbsenmus — gegeben wurde, wurde der Darminhalt sogleich consistenter, mit einem durchschnittlichen Gehalt von 10 Proc. festem Rückstand. Bei möglichst sorgfältiger Sammlung alles aus der Fistel ausfliessenden Inhalts war die Menge desselben bei dünnbreiigen Stühlen im Maximum 550 g mit 4.9 Proc. festem Rückstand. Bei dickflüssiger Entleerung mit 11.23 Proc. festem Rückstand war die 24 stündige Menge 232 g.

Der Abfluss des Speisebreies nach dem Dickdarm ist ein stetiger, nur sinkt er in den Nachtstunden auf das Minimum, wohl deshalb, weil die Patientin, die am Tage fünf Mal Nahrung zu sich nahm, in der Nacht nichts, ausser Grog, genoss. Die Entleerungen geschahen, ohne dass die Patientin etwas davon merkte. Um zu erfahren, wann die genossene Nahrung in den Dickdarm übertritt und wie lange der Speisebrei im Dünndarm verweilt, erhielt die Frau in einem Versuch grüne gekochte, jedoch nicht zerdrückte Erbsen, von denen wir sahen, dass sie unverändert aus der Fistel herausflossen. Als ein anderes Erkennungszeichen benutzten wir das Salol, resp. die daraus im Darm abgespaltene Salicylsäure.

Am 10. Juli erhielt die Patientin Mittags 12 Uhr statt des Griesbreies 200 g grüne Erbsen, Abends $5^1/_2$ Uhr entleerten sich die ersten Erbsen unverdaut aus dem Schlauche und die letzten Erbsen zeigten sich am nächsten Tage noch um 11 Uhr. Diese Erbsenverabreichung wurde sistirt, weil die Patientin behauptet, sie habe seit dem Genuss dieser Erbsen keinen Appetit mehr.

Am 28. Juli erhielt die Frau bei ihrer gewöhnlichen Kost Morgens $^1/_2$10 Uhr auf einmal 2 g Salol. Der bis um $12^1/_4$ Uhr aus der Fistel entleerte Darminhalt — 30 g — wurde filtrirt. Das Filtrat, mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert, wurde mit Aether ausgeschüttelt und nach Verdunsten des ätherischen Auszuges der Rückstand mit einigen Tropfen Wasser und einem Tropfen Eisenchlorid versetzt. Die Reaction auf Salicylsäure fiel negativ aus.

Der Darminhalt von $12^1/_4$ bis $1^1/_4$ Uhr — 62 g —, auf gleiche Weise behandelt, gab mit Eisenchlorid deutlich violette Färbung. Den grössten Gehalt an Salicylsäure zeigte der zwischen $1^1/_4$ bis $3^1/_4$ Uhr entleerte Speisebrei — 33 g. Es wurden hier aus dem Aetherextract einige Milligramm krystallisirter Salicylsäure gewonnen. Wir haben in dieser Portion den Säuregrad bestimmt, denselben jedoch wie normal gefunden. Auf Essigsäure bezogen war er = 0.0924 Proc. Von da ab verminderte sich die Salicylsäureausscheidung. Die letzte deutliche Reaction zeigte der zwischen

$12^1/_2$ bis $2^1/_2$ Uhr in der Nacht entleerte Inhalt. In der zwischen $2^1/_2$ bis $4^1/_2$ Uhr (17 g) erhaltenen Portion war keine Salicylsäure mehr nachweisbar.

Wir haben viel später, nämlich am 15. und 16. October, einen ähnlichen Versuch angestellt. Um zunächst eine Vorstellung über die stündliche Entleerung in das Coecum zu erhalten, wurde der Darminhalt alle zwei Stunden in gewogene Gläser aufgefangen. Am 16. October werden der Frau um 7 Uhr Morgens neben Kaffee und Milchbrot 125 g grüne Erbsen gegeben und um 9 Uhr, also zwei Stunden darauf, erhält sie 2 g Salol. Folgende Tabelle zeigt das Gewicht des alle zwei Stunden gesammelten Darminhalts.

	7—9	9—11	11—1	1—3	3—5	5—7	7—9	9—11	11—1	1—3	3—5	5—7	24stündige Menge
15. October	117 g	49	9	49	118	27	64	27	18	10	12	15	= 515 g
16. „	nichts	62	42	55	56	89	40	14	7	21	2	2	= 390 g

An diesen beiden Tagen war der Darminhalt dünnbreiig. Die ersten Erbsen wurden um $9^1/_2$ Uhr, also nach $2^1/_4$ Stunden, entleert. Bis 3 Uhr Nachmittags anhaltende Entleerung von Erbsen, dann fehlen sie und erscheinen zwischen 7 bis 9 Uhr Abends wieder, von da ab nichts mehr bemerkbar. Auf die Eingabe von Salol um 9 Uhr Morgens tritt die Salicylsäurereaction in dem zwischen 11 und 1 Uhr entleerten Darminhalt auf. Die letzten Spuren treten auf in der zwischen 5 bis 7 Uhr Abends aufgefangenen Portion. Auf Grund der beiden Versuche mit Salol würde der Speisebrei frühestens zwei Stunden nach der Nahrungsaufnahme in den Dickdarm gelangen. Die Versuche mit grünen Erbsen zeigten keine so grosse Uebereinstimmung. Im ersten Versuch zeigten sich die ersten grünen Erbsen nach $5^1/_4$, im zweiten schon nach $2^1/_4$ Stunden. Im ersten Versuch mit Salol dauert die Entleerung etwa 14 Stunden, im zweiten nur etwa 9 Stunden. Im ersten Versuch gingen die letzten Erbsen nach 23 Stunden durch die Fistel ab, im zweiten schon nach 14 Stunden. Die Ursache hiervon liegt in erster Linie in der Consistenz des Speisebreies, resp. der Resorption im Dünndarm. Je kürzer der Darminhalt im Darm verweilt, um so wasserreicher ist er. In den beiden im Juli ausgeführten Versuchen war der Darminhalt dicklich, an den ersten Erbsentagen mit 9.3 Proc. festem Rückstand. Der feste Rückstand am 15. October betrug nur 4.8 Proc.

Der bei der oben angegebenen, vorwiegend aus Eiweiss bestehenden Ernährung aus der Fistel ausfliessende Inhalt war durch Bilirubin gelb bis gelbbraun gefärbt, in der Regel fast geruchlos, von etwas brenzlichem und an flüchtige Fettsäuren, seltener schwach fauligem, an Indol erinnerndem Geruch; meistens dünnflüssig, doch auch dicklich, bis zu Salbenconsistenz. In letzterem Fall mit einem Gehalt an festem Rückstand von durchschnittlich 10 Proc. Auf Taf. II, Fig 1 geben wir das mikroskopische Bild des Darminhalts nach vorwiegender Eiweissernährung, wobei man unschwer viele quergestreifte, durch Gallenfarbstoff gelb gefärbte Muskelfasern, Detritusmassen, Pigmentkörner, sodann amorphe Eiweiss-, Mucin- und Gallensäureflocken, Pflanzenfasern und zahlreiche Bacterien erkennt. Fig. 2 zeigt den Darminhalt, nachdem die Patientin vorwiegend stärkehaltige Nahrung in Form von Erbsen-

mus bekommen hat. Das Präparat ist mit Jod behandelt. Hier überwiegen die Stärkekörner und in den meisten ist die Stärke in das durch Jod roth gefärbte Erythro- resp. Amylodextrin umgewandelt. Auch hier sind die Spaltpilze zahlreich vertreten.

Die Reaction des in das Coecum gelangenden Speisebreies war normaler Weise sauer. Wir haben den aus der Fistel herausfliessenden Darminhalt während sechs Monaten, von Mitte Mai bis Mitte November, untersucht, während der Monate Juni und Juli täglich auf seine Reaction geprüft und denselben nur einmal nach Ernährung mit Erbsenmus neutral reagirend gefunden. Oefters wurde der Säuregrad im filtrirten Darminhalt durch Titration mit Normalalkali bestimmt, wobei als Indicator Lackmus oder Cyanin angewendet wurden. Der durchschnittliche Säuregrad auf Essigsäure bezogen war 1 pro mille. Wir kommen später noch einmal hierauf zurück.

Der von den morphotischen und ungelösten Bestandtheilen filtrirte Darminhalt enthielt in Lösung in der Hitze coagulirendes Eiweiss, Mucin, Peptone, die Umwandlungsproducte der Stärke, wie Dextrin und Zucker, ferner die inactive Gährungsmilchsäure und die optisch active Paramilchsäure, geringe Mengen flüchtiger Fettsäuren, hauptsächlich Essigsäure, Gallensäuren und Bilirubin. An der Luft färbt sich der Darminhalt grün in Folge der Umwandlung des Bilirubins zu Biliverdin. War der Säuregrad im Filtrat erheblich höher als 1 pro mille — 1.5 bis 2.0 pro mille, so erzeugte Essigsäurezusatz keine Fällung oder höchstens schwache Trübung; bei geringerem Säuregrad fällt Essigsäure flockiges Mucin. Wegen des Säuregehalts gerinnt auch das Eiweiss im Filtrat einfach beim Kochen; bei stärkerem Säuregehalt musste das Filtrat erst durch Alkali abgestumpft werden, um das Eiweiss durch Erhitzen ausfällen zu können. Folgender Auszug aus unserem Protokollbuch giebt eine annähernde Vorstellung über den Procentgehalt des Darminhalts an gelöstem Eiweiss, Zucker und Säure:

Darminhalt vom 16. Juni, dickflüssig, das Filtrat enthält Eiweiss, Mucin, Zucker. Beim Erhitzen coagulirt das Eiweiss. Säuregrad auf Essigsäure bezogen 0.116 Proc.

Darminhalt vom 24. Juni. Vom Spital erhaltene Menge 290 g; dickflüssig, Reaction sauer. Säuregrad auf Essigsäure berechnet 0.194 Proc. Der Zuckergehalt hier wie an nachfolgenden Tagen mit Fehling'scher Lösung bestimmt war = 1.47 Proc.

Darminhalt vom 25. Juni, dünnflüssig, Reaction sauer. Säuregehalt 0.171 Proc., Zucker 0.31 Proc., in der Hitze gerinnendes Eiweiss 0.698 Proc.

Darminhalt vom 29. Juni, dünnflüssig, Geruch nach flüchtigen Fettsäuren, stark saure Reaction, enthält mikroskopisch sehr viel Muskelfasern, schon mit blossem Auge als gallig gefärbte Klumpen sichtbar. Die Bacterien unbeweglich, wohl in Folge der Säure. Zucker 4.75 Proc., Säure 0.207 Proc. Der filtrirte Darminhalt giebt mit Essigsäure keine Trübung durch Mucin. Aus dem Filtrate fällt das Eiweiss beim Erhitzen erst nach Abstumpfen der Säure mit Ammoniak.

Darminhalt vom 30. Juni. Consistenz fester, Geruch nach Fettsäuren, Säuregrad = 0.091 Proc.

Darminhalt vom 1. Juli. Erhaltene Menge 316 g, Geruch nach Fettsäuren, dünnflüssig, Säuregrad = 0.114 Proc.

Darminhalt vom 2. Juli. Säuregrad = 0.154 Proc., Eiweissgehalt = 0.45 Proc.

Darminhalt vom 3. Juli. Erhaltene Menge = 323 g, Säuregrad = 0.122 Proc., Eiweissgehalt = 0.814 Proc., Zucker = 1.53 Proc.

Darminhalt vom 4. Juli. Erhaltene Menge = 228 g. Etwas dickflüssiger, Geruch nach flüchtigen Fettsäuren. Säuregrad auf Essigsäure bezogen = 0.041 Proc., Zuckergehalt 1.29 Proc. Ein Theil des Darminhalts wird zur Trockengewicht- und Stickstoffbestimmung verwendet.

2.3586 g im Platinschiffchen bis zu constantem Gewicht bei 110° getrocknet hinterliessen 0.1935 g festen Rückstand = 8.2 Proc. und 0.1935 g der Trockensubstanz gaben 9.8 ccm N-Gas bei 22° Temperatur und 713 mm Bst. = 5.39 Proc. N auf Trockensubstanz und 0.44 Proc. N auf frischen Darminhalt bezogen.

Darminhalt vom 7. Juli, dünnflüssig, schwach sauer, fast geruchlos, starke Peptonreaction. Zuckergehalt = 1.58 Proc. Trockengewicht- und Stickstoffbestimmung ergab folgende Zahlen: 2.9276 g hinterliessen bei 110° getrocknet 0.1937 g Trockensubstanz = 6.52 Proc., woraus bei der Verbrennung 12.4 ccm N-Gas bei 21° und 707 mm Bst. erhalten wurden. Gefundener Stickstoff auf Trockensubstanz 6.78 Proc. und auf feuchte Substanz bezogen 0.44 Proc.

Vom 10. bis 18. Juli erhält die Patientin zu ihrer Mittagsmahlzeit statt Griesbrei gekochte Erbsen, und zwar, nachdem dieselbe am ersten Tage sich darüber beschwerte, dass ihr die grünen Erbsen nicht schmecken und sie den Appetit verliere, wurden sie ihr mit ihrer Zustimmung als Mus, täglich 140 g, verabreicht.

Darminhalt vom 10. Juli. Es werden von der Abtheilung zwei Portionen hinaufgeschickt: 120 g eines wie früher nach Griesbrei und Fleisch dünnflüssigen Inhalts, sauer, mit 1.8 Proc. Zucker, und 83 g feste, sauer reagirende, mit aufgequollenen Erbsen durchsetzte Masse, welche um $5^1/_2$ Uhr Nachmittags entleert wurde, nachdem die Patientin Mittags 12 Uhr grüne Erbsen gegessen hat.

Darminhalt vom 11. Juli. Dickliche, sauer reagirende Massen. Mikroskopisch zahlreiche, mit Stärkekörnern gefüllte Zellen und spärliche Muskelfasern. Ausser diesen dicklichen Massen ist auch dünnflüssiger Inhalt vorhanden. Der Speisebrei wird mit Wasser angerührt und filtrirt. Im Filtrat Zucker und Eiweiss vorhanden, mit Essigsäure keine Trübung.

Darminhalt vom 12. Juli. Die Massen dünnflüssiger, viele stärkehaltige Zellen. Säuregrad auf Essigsäure bezogen 0.163 Proc.

Darminhalt vom 13. Juli. Saure Reaction, etwas fauliger Geruch, im Filtrat 0.95 Proc. Zucker.

Darminhalt vom 14. Juli. Dicklich, sauer, schwach fauliger Geruch. Ein Theil davon wird getrocknet und zur Elementaranalyse verwendet. 3.3624 g im Platinschiffchen bis zu constantem Gewicht getrocknet, hinterliessen 0.2982 g Trockenrückstand = 8.87 Proc. und gaben bei der Stickstoffbestimmung 12.6 ccm N-Gas bei 22° und 713 mm Bst. = 4.49 Proc. N auf trockene und 0.398 N auf feuchte Substanz bezogen.

3.4518 g feuchte = 0.3062 g trockene Substanz im Sauerstoffstrome mit CuO verbrannt gaben 0.4987 g CO_2 und 0.167 g H_2O = 44.41 Proc. C und 6.05 Proc. H.

Der Rest dieses Darminhalts, sowie der vom 14., 15. und 16. Juli wurden eingetrocknet und zur Aschebestimmung verwendet.

Darminhalt vom 18. Juli. Dicklich, saure Reaction, enthält viel Muskelfasern. Es ist der erste wieder, nachdem die Patientin kein Erbsenmus mehr erhält.

Darminhalt vom 19. Juli. Dicklich, enthält viele Muskelfasern. Filtrat sauer, enthält nur Spuren von Zucker und Eiweiss. Das letztere gerinnt erst nach Neutralisation mit Ammoniak. Essigsäure erzeugt im Filtrat keine Trübung.

Darminhalt vom 23. Juli. Dicklich, sauer, enthält 0.47 Proc. Zucker. Es werden darin der feste Rückstand und der Gehalt an in Aether löslichen Stoffen bestimmt. 2.453 g hinterliessen nach dem Trocknen 0.2754 g festen Rückstand = 11.23 Proc. Ferner 5.1505 g feuchter Substanz = 0.5785 g trockener enthielten 0,047 g = 8.12 Proc. der Trockensubstanz in Aether lösliche Stoffe.

Darminhalt vom 27. Juli. Menge = 385 g, etwas dünnflüssiger, enthält 0.937 g Zucker. Säuregrad auf Essigsäure bezogen = 0.154 Proc.

Darminhalt vom 30. Juli = 307 g mit 9.12 Proc. festem Rückstand und der Darminhalt vom 31. Juli = 269 g mit 9.29 Proc. festem Rückstand werden zur Analyse der Asche verwendet.

Aus den erhaltenen Zahlen geht hervor, dass die Menge des gelösten, in der Hitze coagulirenden Eiweisses in dem ins Coecum gelangenden Speisebrei weniger wie 1 Proc. beträgt. Der Zuckergehalt ist viel grösseren Schwankungen unterworfen — von 0.3 bis 4.75 Proc. Dieser höchste Zuckergehalt wurde im Darminhalt vom 29. Juni gefunden, an welchem Tage auch der Säuregrad der höchste = 0.21 Proc. war. Der Darminhalt war hier dünnflüssig, diarrhoeisch, wie überhaupt der Zucker- und Säuregehalt im dünnen Speisebrei höher ist als in dem consistenteren, wo die Resorption offenbar eine grössere war. Der Gehalt an nicht resorbirtem Stickstoff, resp. Eiweiss nach Ernährung mit Fleisch, Eier, Pepton und Milchreis betrug 5.39 und 6.78 Proc. des trockenen Rückstandes. Als Milchreis durch Erbsenmus ersetzt wurde, wo der grösste Theil der Stärke unverändert den Dünndarm passirte, war der N-Gehalt 4.49 Proc. Dieser Stickstoff ist darin fast nur als Eiweiss enthalten. Vermischt man den Speisebrei mit Natronlauge, so ist der Geruch nach Ammoniak nicht wahrnehmbar; erst beim Erwärmen tritt ein schwacher Geruch nach Ammoniak und Trimethylamin auf. Wie weiter unten gezeigt werden soll, haben wir darin weder Leucin noch Tyrosin auffinden können. Rechnen wir den gefundenen Stickstoff durch Multiplication mit 6.25 auf Eiweiss um, so sind 5.39 g N = 32.68 g Eiweiss; 6.78 g N = 42.37 g und 4.49 g N = 28.0 g Eiweiss. 30 bis 42 Proc. des Trockenrückstandes beständen demnach aus Eiweissstoffen. Rechnen wir noch dazu 8.5 Proc. unorganische Salze und eben so viel Fett und in Aether lösliche Stoffe, so würden bei unserer Patientin etwa 45 Proc. des trockenen Rückstandes auf Kohlehydrate und nur in Alkohol lösliche Stoffe zurückzuführen sein. Nach Darreichung von Erbsenmus würde der Gehalt an Kohlehydraten, resp. ihren Umwandlungsproducten etwa 55 Proc. betragen.

Sehr beachtenswerth ist unser Befund, dass durch die ganze Länge des Dünndarms der Speisebrei saure Reaction behält. An Thieren und bei menschlichen Dünndarmfisteln wurde diese Beobachtung wiederholt gemacht. Schon Tiedemann und Gmelin[1]) geben an, dass bei hungernden Thieren die Flüssigkeit in den dünnen Därmen Lackmuspapier röthe und die Röthung nach unten zu abnehme. Die gleichen Autoren bestätigen die zuerst von Prevost und Le Royer[2]) constatirte Thatsache, dass in den zwei ersten Mägen der Wiederkäuer der Speisebrei alkalisch reagire. In dem Blättermagen werde der Inhalt dünner und röthe Lackmus, ebenso im Labmagen und durch den ganzen Dünndarm hindurch bis gegen das Ende des Ileums, wo die Säure gänzlich verschwinde. Nach Meissner reagirt der Duodenalinhalt bei Fleischfressern stets schwach sauer, und Ewald[3]) giebt von seinem Patienten an, bei welchem die Fistel aller Wahrscheinlichkeit nach in dem unteren Theile des Dünndarms sich befand, dass die Reaction des frischen, unmittelbar nach dem Austreten aus der Fistelöffnung untersuchten Darminhalts neutral oder schwach sauer,

[1]) Berzelius' Jahresbericht **7**, Jahrg. 1828.
[2]) Ebenda **5**, Jahrg. 1826.
[3]) Virchow's Archiv **75**, 1878.

aber zu keiner Zeit alkalisch war. Wir wollen hier bemerken, dass die Prüfung, resp. Bestimmung der Acidität zweckmässig im filtrirten Darminhalt anzustellen ist, wobei die stark mit Galle gefärbten Bestandtheile, die die Erkennung der Reaction behindern, zurückgehalten werden. Wiederholt sahen wir, wo die Reaction des frischen Speisebreies uns zweifelhaft schien, dass das Filtrat deutlich sauer reagirte.

Die Ursache der sauren Reaction des Speisebreies bis abwärts zum Coecum sind unzweifelhaft organische Säuren, und zwar hauptsächlich Essigsäure, denn die im Darmrohr entstehenden Milchsäuren werden durch das von der Mucosa gelieferte Alkali neutralisirt. Die Neutralisation der Salzsäure des Magensaftes erfolgt schon in dem oberen Theile des Darmrohrs. Wir haben wiederholt den filtrirten Darminhalt sowohl mit dem Methylviolett, als mit dem Ginsburg'schen Reagens auf freie Salzsäure geprüft und stets mit negativem Resultate. Alle Analysen des Darmsaftes zeigen übereinstimmend, dass dies Secret Natroncarbonat enthalte, und es war interessant, an unserer Patientin zu sehen, wie die Schleimhaut des Ileums alkalisch, der sie benetzende Speisebrei aber sauer reagirte. Beiläufig bemerkt war die alkalische Reaction der Mucosa des Colon stets intensiver als die des Ileums. Die in den meisten Handbüchern vorhandene Angabe, als ob der Chymus schon in dem oberen Theile des Darms neutralisirt und in dem unteren gewöhnlich alkalisch reagire, ist unrichtig. Die alkalische Reaction des Speisebreies beginnt erst im Dickdarm, nachdem derselbe die Ileocoecalklappe passirt hat. Durch die fortdauernde Neutralisation des Chymus auf der alkalischen Dünndarmwand werden mit dem Mucin und den Gallensäuren auch Fett, Cholesterin und das Neutralisationseiweiss mit niedergeschlagen, welche Bestandtheile an der Schleimhaut festkleben und welcher Umstand für die Resorption, namentlich des Fettes, wohl von Bedeutung ist. Als wir filtrirten Darminhalt aus der Fistel mit einer 5 proc. Lösung von glycocholsaurem Natron vermischten, entstand nicht sofort ein Niederschlag. Nach Verlauf von 1/2 Stunde aber war alle Glycocholsäure ausgefällt.

Der Thatsache, dass der Speisebrei im ganzen Dünndarm sauer reagire und die Einwirkung z. B. der pankreatischen Fermente auf Eiweiss, Kohlehydrate und Fett im Lumen des Darmrohrs bei saurer Reaction vor sich geht, sollten die zukünftigen, künstlichen Verdauungsversuche Rechnung tragen. Dass das Pankreas bei saurer Reaction Fette und Säureester in ihre Componenten zerlege, hat der eine von uns schon früher gezeigt [1]). Aus den gleich zu beschreibenden Versuchen geht ferner hervor, dass die saure Reaction des Speisebreies auf diejenigen Spaltpilze, die nur in neutralen oder alkalischen Nährlösungen gedeihen, einen entschieden verderblichen Einfluss ausübt.

Es war für uns von besonderem Interesse, zu ermitteln, welchen Antheil die zahlreich vorhandenen Spaltpilze an der Zersetzung des Speisebreies im Dünndarm haben. Die saure Reaction des Inhalts, der nur schwache und nicht immer faulige Geruch desselben sprachen schon gegen eine intensivere Zersetzung durch Bacterien, immerhin war es möglich, dass bei mangelndem Sauerstoff nicht die Endproducte der Fäulniss, wie das Indol, Skatol, Phenol, flüchtige Fettsäuren u.s.w., wohl aber

[1]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 375, Jahrg. 1885. — Nencki's Opera omnia **1**, 829.

die ersten Umwandlungsproducte des Eiweisses, die abgespaltenen Amido- und die aromatischen Säuren, wie sie kürzlich von uns[1]) bei der anaërobiotischen Gährung des Eiweisses aufgefunden wurden, sich vorfinden werden. Um dieselben nachzuweisen, haben wir folgendes Verfahren eingeschlagen.

Der täglich aus der Klinik erhaltene Darminhalt wurde sofort mit so viel Oxalsäure versetzt, dass derselbe 5 Proc. der Säure enthielt. Der von mehreren Tagen gesammelte Inhalt wurde sodann in Portionen von etwa 1 kg destillirt, und zwar in der Weise, dass als Vorlage mit dem Kühler ein kleiner Kolben verbunden wurde, der dazu diente, mit den Wasserdämpfen übergehende flüchtige Producte zurückzuhalten. Die bei der Destillation entweichenden Gase passirten aus dem vorgelegten Kölbchen einen mit 3 proc. Cyanquecksilberlösung gefüllten Kugelapparat, um den eventuell entweichenden Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan aufzufangen. Das Ergebniss war, und zwar nach Verarbeitung von mehr als 2 kg Darminhalt, dass an Gasen ausser Kohlensäure nur Spuren von Schwefelwasserstoff entwichen. Die Menge dieses Gases war so gering, dass aus der trüben Cyanquecksilberlösung erst nach längerem Stehen Schwefelquecksilber sich abschied. Methylmercaptan war überhaupt nicht nachzuweisen. In den ersten Portionen des wässerigen Destillats war weder mit Pikrinsäure und Salzsäure, noch mit salpetriger Säure Indol oder Skatol nachweisbar. Brom erzeugte darin keine Fällung und nur Millon'sches Reagens färbte das Destillat beim Erwärmen schwach rosaroth. Die Endproducte der Eiweissfäulniss fehlten daher entweder gänzlich oder waren darin nur in Spuren vorhanden. Es stimmt dies mit dem Befund von Ewald überein, welcher im Darminhalt seines Patienten weder Phenol, noch Indol oder Skatol nachweisen konnte. Dass allerdings Spuren von Indol im Darminhalt sich vorfanden, das ergeben der Geruch und der Uebergang des Indoxyls in den Harn, welche beide Reagentien auf Indol viel empfindlicher als Pikrinsäure oder salpetrige Säure sind. Wir haben im Harn der Patientin, selbst nachdem der Dickdarm mehr als einen Monat absolut leer war, an einzelnen Tagen im Harn Indigo nachweisen können. Versetzt man den Harn mit dem gleichen Volumen roher, chlorhaltiger Salzsäure und schüttelt darauf mit etwas Chloroform aus, so färbt sich das letztere durch den gelösten Indigo deutlich blau. Jeder Chlorkalkzusatz ist zu vermeiden, da dann die Spuren des Indigos zerstört werden. Die Menge der in das Destillat übergegangenen flüchtigen Fettsäuren aus 2 kg Darminhalt betrug etwa 1.5 g, fast nur aus Essigsäure bestehend. Aus dem Natronsalze mit Silberlösung gefällt ergab das erhaltene Silbersalz 64.1 Proc. Ag. Die Formel $C_2H_3O_2Ag$ verlangt 64.67 Proc. Ag.

Der nach Abdestilliren der flüchtigen Producte hinterbliebene Retortenrückstand wurde auf dem Wasserbade zu Syrup eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers hinterblieb in geringer Menge eine saure, syrupöse Flüssigkeit. Sie war in jedem Verhältniss mit Wasser mischbar und alle Reactionen auf Phenylpropionsäure, Skatolessigsäure und aromatische Oxysäuren fielen negativ aus. Die saure Lösung wurde mit Zinkhydroxyd im Ueberschuss gekocht, filtrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft. Das

[1]) Wiener Monatsh. f. Chem. **10**, 506. — Dieser Band S. 101.

erste aus der erkalteten Lösung ausgeschiedene Zinksalz, das mikroskopisch das Aussehen des milchsauren Zinks hatte, wurde noch einmal aus Wasser umkrystallisirt und ergab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.2253 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet 0.0411 g an Gewicht = 18.24 Proc. und 0.1842 g des trockenen Salzes hinterliessen nach dem Glühen 0.0612 g ZnO = 26.66 Proc. Zn. Das Salz war also gährungsmilchsaures Zink mit 3 Molekülen Krystallwasser. Die Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn\,3H_2O$ verlangt 18.18 Proc. Gewichtsverlust an Krystallwasser.

Die Mutterlauge dieser Krystalle hinterliess beim weiteren Verdunsten ein in Wasser leichter lösliches Zinksalz, was vermuthen liess, dass auch die active Paramilchsäure zugegen sein könnte. Durch wiederholtes Umkrystallisiren der in Wasser leicht löslichen Partien gelang es uns, auch dieses Salz vollkommen rein zu erhalten. 0.2008 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0.0257 g an Gewicht = 12.88 Proc. und 0.1751 g der trockenen Substanz gaben beim Glühen 0.0583 g ZnO = 26.72 Proc. Zn. Das paramilchsaure Zink verlangt einen Wasserverlust = 12.89 Proc. Nach ungefährer Schätzung betrug die Menge der beiden aus 2 kg Darminhalt erhaltenen Milchsäuren etwa 3 g und jede der beiden Säuren war ungefähr in gleicher Menge vorhanden.

Das gänzliche Fehlen der Gährungsproducte aus Eiweiss veranlasste uns, in dem Darminhalt nach den nächsten Hydratationsproducten des Eiweisses, dem Leucin und Tyrosin, zu suchen. Der von vier Tagen gesammelte Darminhalt wurde jedesmal frisch mit dem dreifachen Volum absoluten Alkohols übergossen, filtrirt und der Alkohol abdestillirt. Der Retortenrückstand, auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess auch bei längerem Stehen nichts Krystallinisches. Der in Alkohol unlösliche Theil wurde daher mit heissem Wasser extrahirt und filtrirt. Nach Entfernung des Kalks und der Phosphorsäure durch Zusatz von wenig Ammoniumcarbonat wurde das Filtrat zum Syrup verdunstet und als auch jetzt nach längerem Stehen kein Leucin oder Tyrosin sich abgeschieden hat, haben wir die syrupöse Masse mit heissem Alkohol extrahirt und das Filtrat auf dem Wasserbade verdunstet. Aber auch hier erfolgte, selbst nach zweimonatlichem Stehen, keine Krystallisation. Die syrupöse Masse bestand wesentlich aus Pepton, mit Zucker und Gallensäuren vermengt.

Wir haben noch einen anderen Weg eingeschlagen und eine grössere Menge Darminhalts zur Entfernung der Gallenbestandtheile und des Fettes mit Aether extrahirt. 233 g trockenen Darminhalts wurden in einem Extractionsapparat zunächst mit Aether bis zur fast völligen Erschöpfung behandelt. Ueber Nacht krystallisirte aus der ätherischen Lösung in gut ausgebildeten Rhomben Bilirubin aus. Die schön rothe Lösung enthielt kein Urobilin. Die Lösung zeigte, spectroskopisch untersucht, keinen Absorptionsstreifen zwischen *b* und *F*; mit alkoholisch-ammoniakalischer Chlorzinklösung versetzt, zeigte sie nicht die geringste Fluorescenz. Diese Beobachtung ist von Interesse, insofern sie uns zeigt, dass der Ort der Reductionsprocesse, speciell der Umwandlung des Bilirubins zu Urobilin, nicht der Dünndarm, sondern der Dickdarm ist. Da durch Extraction mit Aether der Gallenfarbstoff nicht völlig entfernt wurde, wurde das Pulver noch mit Chloroform extrahirt; auch hier war nur Bilirubin, kein Urobilin vorhanden. Auf die Extraction mit Aether und Chloroform

folgte die mit Alkohol. Der alkoholische Auszug wurde verdunstet und da er noch etwas durch Wasser fällbares Gallenharz enthielt, haben wir den Rückstand mit Wasser ausgekocht und den wässerigen Auszug verdunstet. Nach mehrtägigem Stehen bilden sich hier spärliche rhombische Krystallnadeln, die ein Ungeübter mit Tyrosin verwechseln könnte. Möglichst von der Mutterlauge befreit, waren sie in Wasser leicht löslich und zeigten alle Reactionen der Bernsteinsäure. Das Gewicht des nach völliger Extraction mit Aether, Chloroform und Alkohol hinterbliebenen Rückstandes betrug 201 g. Es wurden daher durch diese drei Lösungsmittel dem trockenen Darminhalt 13.3 Proc. darin lösliche Stoffe entzogen. Der Rückstand wurde hierauf mit Wasser ausgekocht. Der zum Syrup verdunstete wässerige Auszug hinterlässt weder Leucin noch Tyrosin und besteht wesentlich aus Peptonen und Zucker. Wir wollen nicht ganz bestimmt in Abrede stellen, dass der pankreatische Saft im Dünndarm aus Eiweiss Leucin und Tyrosin abspalte; wenn aber überhaupt diese beiden Stoffe im Dünndarm entstehen, müsste ihre Menge sehr gering sein und auch bald resorbirt werden.

Aus unserer Untersuchung geht hervor, dass Eiweiss im Dünndarm normaler Weise entweder gar nicht oder nur in sehr geringen Mengen durch die Mikroben zersetzt wird. Wohl aber war es möglich, dass bei der schwach sauren Reaction des Darminhalts die Kohlehydrate durch sie verändert werden, wofür die im Speisebrei vorhandenen Milchsäuren und die Essigsäure sprachen. Wie aus den mikroskopischen Bildern ersichtlich, sind die Spaltpilze darin in grosser Menge vorhanden, und es war unsere nächste Aufgabe, dieselben in Reinculturen zu isoliren und ihr Verhalten gegen Eiweiss und Zucker zu prüfen. Da die Fistelöffnung aseptisch gehalten war und die Frau in einem Isolirzimmer lag, konnten wir unter günstigen Bedingungen in einer ruhigen Atmosphäre die Impfungen vornehmen. Durch freiwilliges Husten konnte die Patientin einen Theil des Speisebreies durch die Fistelöffnung herauspressen und mit einer sterilen Platinöse war es uns leicht, in das Darmlumen zu gelangen und den Inhalt, ehe er in Contact mit der Luft kam, herauszuheben. Manchmal war die Entleerung so reichlich, dass man sie direct in ein steriles Gefäss, welches man dicht an die Fistelöffnung hielt, sammeln konnte. Die weitere Untersuchung geschah in folgender Weise:

Gefärbte und ungefärbte Präparate der breiartigen Massen wurden mikroskopirt, um eine vorläufige Vorstellung über die darin vorhandenen Bacterienformen und ihre relative Menge zu gewinnen. Sodann wurden Proben des Darminhalts mit flüssiger Gelatine und Bouillon behufs gleichmässiger Vertheilung gut durchgerührt und Rollplatten auf 10 Proc. Gelatine und 1.5 Proc. Agar bis zur fünften und sechsten Verdünnung hergestellt. Wir liessen die Gelatine und einen Theil der Agarplatten bei 18 bis 20°, den anderen Theil der Agarculturen bei 38° stehen; auch liessen wir Proben des Darminhalts zunächst in schwach alkalischer Rinderbouillon 1 bis 2 Tage stehen und bereiteten erst hiervon Rollplatten auf Agar und Gelatine. Anaërobiotische Culturen wurden in der Weise hergestellt, dass inficirte Gelatine oder Agar in Glasdosen ausgegossen und mit einer hohen Schicht von Gelatine oder flüssigem Paraffin bedeckt wurde; ebenso wurden ausgerollte Reagensröhrchen mit sterilem Paraffin oder Olivenöl überschichtet. Auch wurden Nährlösungen mit Zusatz von Glycerin,

Dextrose und Galle benutzt; wir werden später auf dieselben zurückkommen. Wir haben im Ganzen von der Patientin zweimal nach vorwiegender Ernährung mit Fleisch und einmal, nachdem sie Erbsenmus erhielt, übergeimpft und die oben beschriebenen Culturen hergestellt.

Die Culturen nach Fleischkost.

Die mikroskopischen Präparate, gefärbt und ungefärbt, zeigten eine ganze Masse von Spaltpilzen. Vereinzelte Bacterien nahmen den Farbstoff (Methylenblau oder Phenolfuchsin) nur schlecht oder gar nicht auf. Es war nicht leicht, die verschiedenen Formen von einander zu unterscheiden, im Ganzen konnten wir sechs Formen unterscheiden: vier Stäbchen- und zwei Coccenarten. Im hängenden Tropfen ergab sich, dass einzelne Bacterien Eigenbewegung besassen, die meisten waren unbeweglich und schienen uns in einem abgeschwächten Zustande zu sein.

Die Gelatineplatten wurden zunächst untersucht. Die ersten Verdünnungen waren rasch verflüssigt und es war schwierig, die einzelnen Formen von einander zu trennen; von den mehr verdünnten Platten konnten wir aber die einzelnen Colonien isoliren. Die verflüssigenden Bacterien waren auf allen Platten vorhanden und da sie rascher wuchsen, wurden sie zuerst isolirt. Es waren dies Bacillen, die in Stichcultur eine trichterförmige Verflüssigung der Gelatine hervorbringen. Die Agarplatten und die von Bouillon hergestellten erleichterten die Isolirung der langsamer wachsenden Formen. Wir beobachteten so lange die Platten, als überhaupt ein Wachsthum darauf zu bemerken war. Durch dieses Verfahren wurden verschiedene, darunter drei durch ihr constantes Auftreten bemerkenswerthe Arten isolirt. Es waren dies:

1. ein die Gelatine rasch verflüssigender Bacillus, den wir deshalb im Folgenden Bacillus liquefaciens ilei nennen werden;
2. ein Kurzstäbchen, im Aussehen dem Bacterium coli commune ähnlich;
3. ein ovales, Gelatine nicht verflüssigendes Bacterium.

Ausser diesen drei vorwiegend vorkommenden Arten wurden noch vereinzelte Colonien folgender Mikroben isolirt:

4. ein ellipsoider Bacillus;
5. ein grosser dicker Bacillus;
6. ein Streptococcus, Gelatine nicht verflüssigend;
7. eine Hefenart;
8. ein Schimmelpilz, in seinen morphologischen Eigenschaften dem Oidium lactis entsprechend.

Es ist bemerkenswerth, dass nicht allein Spalt-, sondern auch Schimmel- und Sprosspilze noch lebensfähig aus dem Darminhalt isolirt wurden, nachdem sie also der Einwirkung des Magen- und Dünndarmsaftes unterworfen waren. Wie schon erwähnt, waren mit Ausnahme der drei erstgenannten Spaltpilze und der Hefe die anderen nur spärlich vertreten, und es gelang erst nach vielem Durchmustern der Platten, dieselben aufzufinden.

Aus den anaërobischen Gelatine- und Agarplatten erhielten wir drei Spaltpilzarten, die aber in ihrem morphologischen Aussehen und Verhalten zum Nährsubstrat den schon aërobisch gezüchteten entsprachen, nämlich:

1. ein nicht verflüssigendes Kurzstäbchen,
2. ein ebenfalls nicht verflüssigendes ovales Bacterium, und
3. ein Streptococcus.

Die zwei ersten waren die prävalirenden Formen und gehören zu den facultativen Anaëroben. Unter den isolirten Spaltpilzen waren keine obligatorisch anaëroben vorhanden.

Die Culturen nach Erbsenmus.

Sie wurden genau in gleicher Weise wie nach Fleischnahrung hergestellt. Mikroskopisch waren wieder zahlreiche Bacterien zu erkennen. Die gefärbten Präparate zeigten auch Formen, die den Farbstoff nicht oder nur schlecht aufnahmen. Man konnte fünf Arten unterscheiden: drei Bacillen und zwei Coccen. Einige von den Bacillen waren beweglich. Auch hier waren die ersten Rollplatten rasch verflüssigt. Aus den mehr verdünnten Platten wurde der verflüssigende Mikrobe als ein Streptococcus und nicht als Bacillus, den wir in den Culturen nach Fleischnahrung fanden, isolirt.

In zweiter Linie fand sich am constantesten ein schlanker Bacillus, den wir ebenfalls bei Fleischnahrung nicht beobachtet hatten. Sehr häufig waren auch Hefearten vorhanden. In Reincultur wurden noch aus den gesammten Agar- und Gelatineplatten isolirt:

1. ein dem Bacterium coli commune ähnliches Kurzstäbchen; höchst wahrscheinlich identisch mit dem bei der Fleischnahrung erhaltenen;
2. ein nicht verflüssigender Mikrococcus, die Coccen zu zweien angeordnet;
3. eine zweite Art von kleineren Diplococcen.

Auf den anaërobischen Platten waren drei Arten zu unterscheiden: zwei Coccenarten, die morphologisch identisch waren mit den nicht verflüssigenden, aërobisch isolirten Coccen, die dritte Art war ein Bacillus, den wir bei den aërobischen Platten nicht bemerkt haben. Es war ein Stäbchen, lange, manchmal kreisförmige Ketten bildend. Bei Fleischdiät wurde er nicht erhalten, in Reincultur wächst er auch aërobisch. Im Ganzen wurden hier folgende Mikroben isolirt:

1. ein Gelatine verflüssigender Streptococcus,
2. ein schlanker Bacillus,
3. ein grosser Diplococcus,
4. ein kleiner Diplococcus,
5. ein Kurzstäbchen, dem Basterium coli commune ähnlich,
6. ein kettenbildender Bacillus,
7. Hefearten.

Schimmelpilze wurden hier nicht erhalten.

Mit dem Wechsel der Nahrung und mit der Zeit prädominiren hier also ganz andere Mikroben, so namentlich der Streptococcus liquefaciens und der schlanke

Bacillus. Von den bei der Fleischkost isolirten Bacterien wurde hier nur das dem Bacterium coli commune ähnliche Kurzstäbchen gefunden. Die auch hier isolirten Spaltpilze waren facultative Anaëroben, sie wuchsen sowohl bei Luftzutritt, als bei Luftausschluss.

Vier Wochen später, als die Frau seit längerer Zeit wieder vorwiegend Fleischkost und keine Erbsen in ihrer Nahrung erhielt, wurde zum dritten Mal der Darminhalt übergeimpft und eine Serie von Culturen angelegt. Mikroskopische Präparate zeigten hier, wie in den vorhergehenden Versuchen, eine grosse Anzahl von Bacterien, und es war möglich, sechs Arten zu unterscheiden. Es waren auch hier schlecht, oder gar nicht zu färbende Formen und Bacillen, die eine Eigenbewegung hatten. Auf den Platten trat keine allgemeine Verflüssigung der Gelatine ein, so dass wir annehmen konnten, dass die schon isolirten verflüssigenden Arten im jetzt entnommenen Darminhalt nur spärlich vertreten waren. Zwei Arten waren constant zu finden: ein nicht verflüssigender Bacillus mit abgerundeten Enden und ein ovaler Mikrococcus. Ergänzende Versuche wurden jetzt noch mit Zucker- und Glyceringelatine angestellt. Im Ganzen konnten wir hier sieben Arten isoliren:

1. einen Bacillus mit abgerundeten Enden,
2. einen ovalen Mikrococcus,
3. ein Kurzstäbchen mit abgestutzten Enden,
4. einen Mikrococcus, der Gelatine nur theilweise und langsam verflüssigt,
5. einen plumpen Bacillus mit abgerundeten Enden,
6. Hefearten,
7. einen Schimmelpilz.

Die zwei ersten Arten waren auf allen Platten zu finden und besonders auf den Rollplatten mit Glycerin- und Zuckergelatine reichlich vorhanden. Ausserdem wuchs auf den anaërobischen Platten ein Bacterium, ungefähr so gross wie das Bacterium coli commune, das aber Gelatine langsam verflüssigte. Auch hier waren die isolirten Spaltpilze facultative Anaëroben.

Im Ganzen war das Bild ein anderes, als wie in dem ersten Versuch nach Fleisch und auch in dem zweiten nach Erbsendiät. Mit der Nahrung und mit der Zeit scheinen die in dem Dünndarm vorkommenden Bacterienarten in einem steten Wechsel begriffen zu sein. Zu verschiedenen Zeiten dominiren verschiedene Arten und werden die früher vorherrschenden zurückgedrängt, oder verschwinden ganz.

Nach diesen orientirenden Versuchen haben wir uns zur Aufgabe gestellt, diejenigen Spaltpilze, die am constantesten vorkamen, morphologisch und physiologisch eingehender zu studiren. Von den isolirten Arten wählten wir sieben aus, die am häufigsten im Dünndarminhalt zu finden waren, in der Erwartung, durch die eingehendere Untersuchung eine Vorstellung über den Antheil der Spaltpilze an der Zersetzung des Speisebreies gewinnen zu können.

Es waren dies:

1. das dem Bacterium coli commune ähnliche Kurzstäbchen, das wir Bacterium Bischleri nennen wollen (Fleischversuch I),
2. der Streptococcus liquefaciens ilei v. acidi lactici (Erbsenversuch),

3. das Bacterium ilei Frey (Fleischversuch II),
4. der Bacillus liquefaciens ilei (Fleischversuch I),
5. das ovale Bacterium, Bacterium ovale ilei (Fleischversuch I),
6. der schlanke Bacillus, Bacillus gracilis ilei (Erbsenversuch),
7. das Kurzstäbchen, wahrscheinlich mit dem Bacterium lactis aërogenes (Escherich) identisch (Fleischversuch II).

Bacterium Bischleri.

Dieser Mikrobe ist ein Kurzstäbchen von wechselnder Länge, meistens jedoch 4 μ lang und 3 μ breit. Gewöhnlich zu zweien verbunden. Eigenbewegung und Sporenbildung wurden nicht beobachtet. In seinem Aussehen hat er viel Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli commune, weshalb wir ihn anfänglich für identisch damit hielten. Er verflüssigt Gelatine nicht.

Auf Gelatineplatten sind die tieferen Colonien gelblich, in der Mitte dunkler und fein gekörnt. Die oberflächlichen Colonien sind mattweiss (s. Taf. III, Fig. 1). In Stichculturen wächst er langsam, längs des Stichcanals als kleine weissliche Knöpfchen. Oberflächlich ist das Wachsthum gering und bildet einen zarten, unregelmässig gebuchteten Belag. Aehnlich ist das Wachsthum oberflächlich auf dem Agar. Milch wird durch dieses Bacterium bei 38° innerhalb 22 Stunden zur Gerinnung gebracht. Bei Zimmertemperatur erst in fünf bis sechs Tagen. Aufgeschwemmte Cultur dieser Mikroben, Meerschweinchen subcutan injicirt tödtet die Thiere in zwei bis drei Tagen.

Herr Dr. A. Bischler, der mit bacteriologisch-chemischer Untersuchung der im menschlichen Dickdarm vorkommenden Spaltpilze in unserem Laboratorium beschäftigt ist, hat auch dieses aus dem Ileum isolirte Bacterium auf sein Verhalten gegen Zucker und Eiweiss untersucht, und zwar mit folgendem Ergebniss.

In drei Liter Fleischwasser wurden 200 g Dextrose gelöst, der Flüssigkeit 75 g Calciumcarbonat zugesetzt und nach erfolgter Sterilisation am 16. Juli mit einer Reincultur des Bacteriums geimpft. Bei Bruttemperatur stellt sich eine lebhafte Gasentwickelung ein. Am neunten Tage, als die Gasentwickelung nachgelassen hatte, wurde die Flüssigkeit in folgender Weise verarbeitet.

Zunächst wurde die Cultur auf ihre Reinheit und auf den Zuckergehalt geprüft. Die Flüssigkeit reducirte nur schwach alkalische Kupferlösung und zeigte polarimetrisch untersucht keine Drehung mehr. Es waren also nur sehr geringe Mengen unzersetzten Zuckers vorhanden. Sie wurde nun vom Bodensatz abgegossen und so lange destillirt, bis das Destillat mit Jod und Natronlauge kein Jodoform mehr gab. Durch Aussalzen des Destillats mit geglühter Pottasche wurde ein Alkohol erhalten, der, über Aetzkalk getrocknet, constant bei 77° überdestillirte. Es war also reiner Aethylalkohol, wovon im Ganzen 6 g erhalten wurden. Der Retortenrückstand wurde mit Oxalsäure vollkommen ausgefällt und das Filtrat von Neuem destillirt. Die jetzt übergegangenen flüchtigen Fettsäuren wurden mit Soda genau neutralisirt, die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet, das erhaltene Natronsalz aus Alkohol umkrystallisirt und mit Silbernitrat gefällt. 0.2224 g des Silbersalzes aus der ersten Krystallisation

hinterliessen geglüht 0.1435 g Ag = 64.52 Proc. Ag. 0.2043 g des Silbersalzes aus der zweiten Krystallisation hinterliessen geglüht 0.1322 g Ag = 64.7 Proc. Essigsaures Silber enthält 64.6 Proc. Ag. Die flüchtige Säure bestand demnach nur aus Essigsäure, wovon im Ganzen etwa 7 g gewonnen wurden. Der Retortenrückstand wurde jetzt auf dem Wasserbade zum Syrup eingedampft und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers hinterblieb ein gelblicher Syrup, der, mit Zinkhydroxyd gekocht, die gewöhnliche inactive Milchsäure lieferte. Gefunden 17.98 Proc. Krystallwasser und 26.78 Proc. Zn, berechnet 18.18 Proc. Krystallwasser und 26.74 Proc. Zn.

Von Interesse ist es, dass aus den Culturen des Bacterium coli commune Herr Dr. Bischler die gleichen Gährungsproducte des Zuckers, nämlich Aethylalkohol, Essigsäure und Milchsäure erhielt. Die hier erhaltene Säure war aber die optisch active, mit 12.9 Proc. Krystallwasser. In freiem Zustande dreht sie das polarisirte Licht nach rechts und als Zinksalz nach links. Sie ist demnach die Rechtsmilchsäure. Die beiden Spaltpilze sind daher in ihren Gährungsproducten nicht identisch und das Hauptunterscheidungsmerkmal ist, dass im einen Falle die optisch inactive, im anderen Falle die optisch active Milchsäure entsteht. Vor Kurzem haben wir gezeigt [1]), dass die sogenannte Fleisch- oder Paramilchsäure ein ausschliessliches Gährungsproduct des Zuckers durch den Mikrococcus acidi paralactici ist. Seither haben wir schon fünf Arten Spaltpilze gefunden, die aus Glucose die active Paramilchsäure bilden. Sie sollen später beschrieben werden. Hier möchten wir nur betonen, dass der Nachweis, ob durch einen Mikroben die active oder inactive Milchsäure gebildet wird, diagnostisch zur Unterscheidung einzelner Spaltpilzarten verwerthet werden kann.

Auf Eiweissstoffe wirkt der Bacillus Bischleri nicht ein. Kleingehacktes, mit dem vierfachen Volumen Wasser übergossenes und sterilisirtes Rindfleisch wurde mit dem Bacterium inficirt und anaërobiotisch, in Kohlensäureatmosphäre bei 38° stehen gelassen. Als nach sieben Tagen keine Gasentwickelung stattfand und die Flüssigkeit klar blieb, wurde der Kolben geöffnet, mit frischer Cultur geimpft und mit Wattepfropf verschlossen. Nach zehn Tagen war auch hier bei Bruttemperatur keine Zersetzung zu bemerken. Der Kolbeninhalt blieb klar, geruchlos und mikroskopisch war die Zahl der Bacterien sehr gering.

Der Streptococcus liquefaciens ilei v. acidi lactici.

Es sind kleine, feine Coccen, häufig in Ketten zu 6 bis 20, sogar 40 Glieder geordnet, mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht färbbar. Auf Gelatineplatten bilden sie kleine runde, gelbliche Colonien von einer schmalen Zone der verflüssigten Gelatine umgeben. In Stichculturen entsteht auf der Oberfläche eine napfähnliche Verflüssigung der Gelatine. Die Verflüssigung findet allmählich von oben bis unten statt und nach drei Wochen sind zwei Drittel der Gelatine verflüssigt. In Agar bilden sie auf der ganzen Oberfläche einen mattweissen Belag. In Bouillon nach

[1]) Wiener Monatsh. f. Chem. **10**, 532. — Dieser Band S. 131.

24 Stunden bei Bruttemperatur bildet sich Trübung und nach zwei Tagen ein Bodensatz, aus Streptococcen bestehend. Kein Fäulnissgeruch. Sterile Milch wird durch die Coccen nach 22 Stunden bei 38° zur Gerinnung gebracht. Der Streptococcus liquefaciens ilei ist für Meerschweinchen pathogen. Mit Bouillonculturen geimpft, starben die Thiere nach 24 Stunden.

Um die Zersetzung des Zuckers und des Eiweisses durch diesen und die folgenden Mikroben kennen zu lernen, haben wir einerseits eine Nährlösung hergestellt, bestehend aus 40 g Glucose, 12 g Pepton Kemmerich, 16 g Calciumcarbonat und 2 g Kochsalz in 800 g Wasser. Andererseits wurden 200 g kleingehacktes Rindfleisch mit 800 g Wasser in mit Watte verschlossenem Kolben sterilisirt. Sowohl die Zuckerlösung wie das Fleisch wurde mit den betreffenden Pilzen am 21. August inficirt und im Thermostaten bei 38° bis zum 12. September stehen gelassen. An diesem Tage wurden die Kolben herausgenommen, blieben noch bis zum Ende des Monats bei Zimmertemperatur stehen, wo sie dann der Reihe nach auf die Zersetzungsproducte verarbeitet wurden.

Die mit dem Streptococcus ilei geimpfte Zuckerlösung am 3. October untersucht, zeigt unter dem Mikroskop, dass die Cultur rein geblieben ist. Die nach gleicher Methode, wie bei Bacillus Bischleri angegeben, verarbeitete Lösung enthielt nur Spuren unveränderten Zuckers. Nicht bestimmbare Mengen eines Alkohols und die eingedampfte Lösung erstarrte beim Erkalten zu einem Krystallbrei des milchsauren Kalks. Ein Theil des Kalksalzes wurde in das Zinksalz verwandelt, welches bei der Analyse folgende Zahlen ergab: 0.2305 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0.0423 g an Gewicht und hinterliessen beim Glühen 0.0623 g ZnO = 18.34 Proc. Krystallwasser und 26.57 Proc. Zn. Es lag also die inactive Milchsäure vor. Bis auf geringe Mengen von Nebenproducten ist hier der Zucker in die inactive Säure verwandelt worden und ist dieser Mikrobe ganz besonders zur Darstellung der Milchsäure geeignet.

Das mit dem Streptococcus liquefaciens inficirte Fleisch war zum Theil zersetzt. Die Lösung war trübe, reagirte stark alkalisch und roch nach altem Käse, ohne an Skatol oder Indol zu erinnern. Die mikroskopische Untersuchung ergab aber, dass darin ausser den Streptococcen noch ziemlich zahlreiche Stäbchen vorhanden waren. Die Cultur blieb nicht rein und wir haben sie deshalb nicht weiter untersucht.

Bacterium ilei Frey.

Ein Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, 2 bis 3 μ lang, 1 μ breit, häufig zu zweien angeordnet, aber auch in Haufen. Sie sind wenig beweglich und bilden Sporen, meistens an beiden Enden des Stäbchens. Mit Methylenblau und Ziehl'scher Lösung leicht färbbar. Auf Gelatineplatten breiten sie sich auf der Oberfläche aus und haben eine grauweisse Farbe. Bei schwacher Vergrösserung sind die Colonien fein gekörnt und bestehen aus drei Zonen, nämlich in der Mitte einer bräunlichen, dann einer gelblichen und am Rande einer gelbweisslichen. Der Rand ist unregelmässig gebuchtet (s. Taf. III, Fig. 2a). In Gelatinestichculturen bilden sie feine, gelbweisse Körnchen; oberflächlich erscheinen sie als eine mattweisse, feuchte Ausbreitung

mit gebuchtetem Rand. Aehnlich auch auf Agar, wo auf der Oberfläche ein breiter, grauweisser Belag unregelmässig gebuchtet sich bildet. Längs des Stichcanals weisslichgelb, nicht deutlich gekörnt. In Bouillon wachsen sie rasch und bringen Milch zur Gerinnung bei Bruttemperatur innerhalb 20 Stunden.

Die mit dem Bacillus ilei Frey geimpfte Zuckerlösung wurde am 6. October untersucht. Die Cultur war rein und die Flüssigkeit geruchlos. Sie reducirt etwas alkalisches Kupfer, dreht aber im Wild'schen Polaristrobometer das Licht nach links, und zwar um 40 Minuten in 100 mm langer Schicht. Der Destillation unterworfen giebt sie starke Jodoformreaction, und durch Aussalzen mit Pottasche, Trocknen und Rectificiren erhielten wir 6 g reinen, zwischen 76 bis 77° bei 706 mm Bst. siedenden Aethylalkohols oder 15 Proc. vom Gewicht des angewandten Zuckers. Der Retortenrückstand wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Aether, hierauf mit Alkohol-Aether (1 Vol. Alkohol, 2 Vol. Aether) extrahirt. Wir erhielten so als Hauptbestandtheil Bernsteinsäure und in etwas geringerer Menge die active Paramilchsäure. Nach Abdestilliren des Aethers und Zusatz von wenig Wasser krystallisirt die Bernsteinsäure aus, während die Milchsäure in Lösung bleibt. Die von den Krystallen abfiltrirte Mutterlauge wurde mit Zinkhydroxyd gekocht und filtrirt. Im Filtrat befindet sich das in Wasser lösliche milchsaure Zink, während das bernsteinsaure Zink als unlöslicher Niederschlag zurückbleibt.

0.1893 g des lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 110° 0.0239 g = 12.62 Proc. an Gewicht und 0.1654 g des trockenen Salzes hinterliessen geglüht 0.0556 g ZnO = 27.0 Proc. Zn.

Die hier erhaltene Bernsteinsäure wurde ebenfalls analysirt: 0.2246 g der aus Wasser umkrystallisirten Substanz gaben 0.3368 g CO_2 und 0.1083 g H_2O oder 40.89 Proc. C und 5.35 Proc. H. Die Formel $C_4H_6O_4$ verlangt 40.68 Proc. C und 5.08 Proc. H.

Mit Rücksicht auf das etwas differente Verhalten des hier erhaltenen Zinkparalactates und der Vermuthung, dass hier vielleicht die zweite active, inzwischen von Schardinger entdeckte Linksmilchsäure vorliegt, hat Herr Dr. Frey[1]) in unserem Laboratorium mit diesem Bacillus Versuche in grösserem Maassstab wiederholt. Wir wollen hier nur erwähnen, dass bei der Gährung des Zuckers bei Luftausschluss das entwickelte Gas aus Kohlensäure und Wasserstoff besteht. Einer Analyse zufolge enthielt das entwickelte Gas am dritten Gährungstage 57 Vol.-Proc. CO_2 und 43 Vol.-Proc. H.

Eiweiss wird durch diesen Mikroben nicht verändert. Das inficirte Fleisch blieb ungelöst und die Flüssigkeit klar.

Der Bacillus liquefaciens ilei.

Es sind feine, schlanke Stäbchen, 2.0 bis 2.3 μ lang, 0.4 μ breit. Sie bilden keine Sporen, wachsen schnell und sind beweglich, so dass sie im hängenden Tropfen, ähnlich den Cholerabacillen, wie ein Mückenschwarm umhertanzen. Sie lassen sich

[1]) Hans Frey, Ueber die Zersetzungsproducte der im menschlichen Dünndarme vorkommenden Mikroben. Schweiz. Wochenschrift für Pharmacie (1891), Nr. 12.

nur schwer färben, am besten noch mit Methylenblau. Auf Gelatineplatten bei Zimmertemperatur bilden sie nach zwei Tagen mit blossem Auge sichtbare, kleine, runde, scharf begrenzte, verflüssigende Colonien. Bei schwacher Vergrösserung sieht man in der Mitte eine bräunliche, nicht scharf begrenzte Colonie, von einer Schicht verflüssigter Gelatine umgeben (s. Taf. III, Fig. 3). In Stichculturen längs des Stichcanals entsteht eine schlauchförmige Verflüssigung der Gelatine, die weissliche Flöckchen der Bacterien enthält; am Boden entsteht ein weisser Bacterienniederschlag. Nach zwei Wochen ist die Gelatine vollständig verflüssigt. Auf Agar bildet sich ein grauweisser, feuchter Belag auf der ganzen Oberfläche. In Bouillon wachsen sie bei Bruttemperatur rasch. Nach 24 Stunden ist die Flüssigkeit trübe und nach zwei Tagen bildet sich an der Oberfläche eine dünne Bacterienschicht, die durch Schütteln zu Boden sinkt; dabei ist kein Fäulnissgeruch bemerkbar. Frische sterile Milch wird durch diesen Mikroben nicht zur Gerinnung gebracht.

Dextrose wird durch diesen Bacillus nur in geringem Maasse zersetzt. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwies sich die Cultur als rein. Die Flüssigkeit reagirte neutral, war geruchlos und enthielt noch 3.2 Proc. unveränderten Zuckers. Durch Destillation haben wir daraus etwas Alkohol erhalten, jedoch zu wenig, um seine Natur festzustellen. Ebenso Spuren flüchtiger Fettsäure und aus dem Aetherextract durch Kochen mit Zinkhydroxyd wurde in für eine Analyse unzureichender Menge Zinksalz erhalten.

In dem Fleischkolben wurde etwa die Hälfte des Fleisches zersetzt. Die Flüssigkeit roch nach altem Käse, reagirte stark alkalisch und entwickelte, mit Natronlauge versetzt, viel Ammoniak, enthielt aber weder Indol, Skatol, noch Methylmercaptan. Die Zersetzungsproducte des Eiweisses durch diesen Mikroben, nachdem dessen Wirksamkeit darauf erwiesen, werden in unserem Laboratorium untersucht.

Das ovale Bacterium (Bacterium ovale ilei).

Fast kreisrunde, wie Coccen aussehende Kurzstäbchen, die Uebergangsstufen bis zu bacillenähnlichen Formen bilden. Auf Gelatineplatten erscheinen die Colonien braungefärbt, rund und oval mit unregelmässigen Contouren (s. Taf. III, Fig. 4a), in Stichculturen eine flache, einem Nagelkopf ähnliche Ausbreitung, längs des Stichcanals länglich, weiss und gekörnt. Am unteren Ende des Stichcanals grosse, isolirte Körnchen. In Bouillon wachsen sie rasch, ohne Fäulnissgeruch. Sie bringen Milch nicht zur Gerinnung.

Die Cultur in der Zuckerlösung war rein. Die Lösung enthielt noch 1.3 Proc. Zucker. Durch Destillation wurden daraus 3.5 ccm Aethylalkohol gewonnen. Auch Spuren einer flüchtigen Fettsäure, wahrscheinlich Essigsäure, waren vorhanden. Durch Extraction mit Aether des mit Oxalsäure angesäuerten Rückstandes und Ueberführen der in Aether übergegangenen Milchsäure in das Zinksalz wurden etwa 0.4 g des Salzes erhalten, das der Krystallwasserbestimmung zufolge paramilchsaures Salz war. 0.216 g verloren bei 110^{0} 0.028 g = 12.9 Proc. an Gewicht und hinterliessen beim Glühen 0.063 g ZnO = 26.87 Proc. Zn.

Das mit diesem Mikroben inficirte Fleisch blieb unverändert.

Der schlanke Bacillus des Ileum.

Ein feines, schlankes Stäbchen, etwa fünfmal so lang als breit, mit Eigenbewegung, gewöhnlich zu zweien aneinandergereiht. Sporenbildung nicht beobachtet. Auf Gelatineplatten weissgelbliche, runde Colonien mit scharfem Rand. In Stichculturen auf der Oberfläche ein dünner, zarter Belag von mattweisser Farbe. Längs des Stichcanals spärliches Wachsthum, dagegen in Bouillon wachsen sie gut bei 38°, sie bringen Milch binnen 20 Stunden zur Gerinnung.

In Zuckerlösung war die Cultur rein und enthielt noch 2 Proc. unveränderten Zucker. Die Menge des abgeschiedenen Alkohols betrug etwa 4 ccm, wovon der grösste Theil zwischen 77 bis 80° überging. Ein kleiner Rest siedete jedoch höher, die Menge war aber zu gering, um die Natur des höher siedenden Alkohols festzustellen. Ausserdem wurden Spuren einer flüchtigen Säure, höchst wahrscheinlich Essigsäure, erhalten und aus dem Aetherrückstande wurden etwa 0.3 g eines Zinksalzes dargestellt, dessen Analyse ergab, dass auch hier Paramilchsäure vorlag. 0.186 g des Salzes verloren bei 110° 0.023 g an Gewicht = 12.36 Proc. und hinterliessen beim Glühen 0.054 g ZnO = 26.58 Proc. Zn. Auch durch diesen Bacillus wurde das Fleisch nicht verändert.

Das mit dem Bacterium lactis aërogenes (Escherich) wahrscheinlich identische Kurzstäbchen.

Scharf abgerundet, einzeln oder zu zweien verbunden, auch in Haufen. Auf Gelatineplatten oberflächlich weisse, glänzende Colonien; in den tieferen Schichten gelblichweisse, runde Punkte (s. Taf. III, Fig 5). In Stichculturen Wachsthum längs des Stichcanals knöpfchenförmig. Oberflächlich eine porcellanweisse, flache Ausbreitung, ebenso auf Agar. Rasches Wachsthum in Bouillon. Bei Bruttemperatur gerinnen sie Milch in 20 Stunden, bei Zimmertemperatur in vier Tagen. Aehnlich wie das Bacterium lactis aërogenes war auch unser Mikrobe für Meerschweinchen pathogen und tödtete dieselben nach subcutaner Injection in zwei bis vier Tagen.

Die Zuckerlösung war nicht mehr optisch wirksam, doch reducirte sie noch wenig Kupferoxyd in alkalischer Lösung. Der Zucker war also bis auf geringe Spuren zersetzt. Bei der Destillation wurde Alkohol in reichlichen Mengen erhalten. Die Menge des Rohproductes war etwas über 8 ccm und bei der Rectification ging bis auf einen geringen Rest der Alkohol zwischen 77 bis 79° über. In geringer Menge war auch Essigsäure vorhanden. Gefunden wurden in dem Silbersalze 64.55 Proc. Ag. Im Rückstande war viel Bernsteinsäure, daneben auch Milchsäure. Die Menge des in Wasser löslichen erhaltenen Zinksalzes reichte aber für eine Analyse nicht aus, weshalb Herr Dr. Frey [1]) den Gährungsversuch mit diesem Mikroben in grösserem Maassstabe wiederholte und fand, dass die hier gebildete Säure Rechtsmilchsäure war. Anaërobiotisch in CO_2-Atmosphäre findet hierbei in Zuckerlösungen starke Gasentwickelung statt. Das am 14. Tage aufgefangene Gas bestand aus 72.38 Vol.-Proc. CO_2 und 27.61 Vol.-Proc. Wasserstoff.

[1]) Loco citato.

Bevor wir aus unserer Untersuchung der Dünndarmbacterien Schlussfolgerungen über ihren Antheil an der Zersetzung des Speisebreies daselbst machen, halten wir es für nöthig, einige Worte über die in den anderen Abschnitten des Verdauungsschlauches vorkommenden Spaltpilze vorauszuschicken. Es wird wohl jetzt von Niemandem bezweifelt, dass unser ganzer Verdauungscanal — Mundhöhle, Magen, Dünn- und Dickdarm — constant Mikroben enthält, und aus der Untersuchung von Sucksdorf[1]) geht hervor, dass ihre Menge je nach den Nahrungsstoffen und ihrer Zubereitung, d. h. ob sie durch Kochen mehr oder weniger sterilisirt sind, sehr wechseln kann.

Ausführliche Untersuchungen über die Spaltpilze der Mundhöhle liegen von Miller[2]) vor. Miller isolirte eine grosse Anzahl von Mikroben, die ihren Hauptsitz in der Mundhöhle haben. Er fand ferner, dass fünf Spaltpilze der Mundhöhle eine erhebliche Gasentwickelung in zuckerhaltigen Substraten hervorrufen. Wir erwähnen darunter den Mikrococcus aërogenes und das Bacterium aërogenes, welche möglicher Weise mit einigen von uns isolirten identisch sein könnten. Von den von Raczynski[3]) im Hundemagen nach Fleischnahrung isolirten drei Bacillenarten könnte vielleicht sein Bacillus geniculatus mit unserem Bacillus liquefaciens ilei identisch sein.

Escherich[4]) fand im Meconium sehr verschiedene Arten und Formen, darunter Bacterien, die in faulenden Flüssigkeiten vorkommen. Sein Befund war:

1. Köpfchenbacterien, nicht rein isolirt,
2. Stäbchen, vielleicht mit dem Bacillus subtilis identisch,
3. ein zierlicher, Gelatine verflüssigender Kettencoccus — Streptococcus coli gracilis,
4. das Bacterium coli commune, selten,
5. eine Anzahl Coccenarten,
6. eine Hefeart.

Bei Milchkoth dagegen verschwand die Mannigfaltigkeit der Formen. Zwei Arten kamen am constantesten vor: 1. das Bacterium coli commune, und 2. das Bacterium lactis aërogenes.

Drei der obigen Arten wurden auch im Darmcanal und Koth des Fleischfressers gefunden, und zwar 1. das Bacterium coli commune, besonders reichlich in den unteren Darmpartien und im Stuhl der Säuglinge, 2. das Bacterium lactis aërogenes, besonders im Dünndarm der Säuglinge, und 3. der vorwiegend im Meconium vorkommende Streptococcus coli gracilis.

Bezüglich der Mikroben im menschlichen Dickdarm erwähnen wir noch die Arbeit von Bienstock[5]) und William Booker[6]). Der erste Autor isolirte aus

---

[1]) Archiv f. Hygiene **4**, (1886) und Centralbl. f. Bacteriol. **2**, 83.

[2]) Deutsche med. Wochenschr., Jahrg. 1884, Nr. 36 u. 38, Jahrg. 1886, Nr. 8, Jahrg. 1888, Nr. 30. Vergl. auch sein Buch „Ueber die Spaltpilze der Mundhöhle“.

[3]) Centralbl f. Bacteriol. **6**, 112, Jahrg. 1889.

[4]) Fortschritte der Medicin **3**, Jahrg. 1885.

[5]) Zeitschr. f. klin. Medicin **8**.

[6]) Referirt im Centralblatt für Bacteriologie **5**, 316.

den menschlichen Fäces vier Mikroben, darunter einen, den er als specifischen Erreger der Eiweissgährung betrachtet. Der zweite untersuchte hauptsächlich die Fäces der Säuglinge und fand im normalen Milchkoth das Bacterium coli commune in Reincultur. In diarrhoeischen Entleerungen nimmt seine Zahl proportional der Schwere der Erkrankung ab, wofür dann ein dem Bacterium lactis aërogenes ähnliches Kurzstäbchen prävalirt.

Von den von uns genauer untersuchten Arten sind es drei, die möglicher Weise mit den von früheren Forschern aus dem Darminhalt isolirten identisch sein könnten: der Streptococcus liquefaciens ilei mit dem Streptococcus coli gracilis, das Bacterium Bischleri mit dem Bacterium coli commune und das bei dem Fleischversuch II isolirte Kurzstäbchen mit dem Bacterium lactis aërogenes.

Der Streptococcus liquefaciens ilei unterscheidet sich aber durch zwei Merkmale von dem Streptococcus coli gracilis (Escherich). Er verflüssigt Gelatine schichtweise von oben nach unten und ist für Meerschweinchen pathogen. Der Streptococcus coli gracilis erzeugt eine trichterförmige Verflüssigung der Gelatine und ist nicht pathogen.

Im Aussehen und Wachsthum entspricht das Bacterium Bischleri dem Bacterium coli commune. Das erste bildet aber aus Zucker die optisch inactive, das letzte die optisch active Paramilchsäure. Sie sind also nicht identisch. Aus gleichem Grunde ist es uns fraglich, ob das von C. Gessner[1]) aus dem Duodenum des Menschen isolirte und als Bacterium coli commune bezeichnete Kurzstäbchen nicht vielleicht mit dem Bacterium Bischleri identisch ist.

Was das dritte Kurzstäbchen betrifft, so scheint es uns wirklich mit dem Bacterium lactis aërogenes identisch zu sein. Es sind Kurzstäbchen, etwa 2 μ lang und um etwas weniger breit. Die Grössendurchmesser sind aber nicht constant, manchmal etwas länger, ein anderes Mal fast kreisrund, coccenähnlich. Sie sind facultativ anaërob, gerinnen Milch bei Bruttemperatur innerhalb 24 Stunden und auf Platten und in Stichcultur haben sie eine grosse Aehnlichkeit mit dem Bacterium lactis aërogenes. Wie schon oben angegeben, zersetzen sie Fleisch nicht, wohl aber vergähren sie Zucker unter Bildung von Alkohol, Bernstein-, Essig- und Milchsäure. Die Bienstock'schen Bacillen haben wir im Dünndarm nicht gefunden. Es war uns daher von Interesse, die im Dickdarm der Patientin, nachdem dieselbe mehr wie zwei Monate lang keine Defäcation hatte, vorhandenen Mikroben zu untersuchen. Der Dickdarm wurde mit steriler Kochsalzlösung vom Rectum aus ausgespült und nach einigen Minuten Proben der aus dem oberen Ende des Dickdarms herausfliessenden Flüssigkeit entnommen. Mikroskopisch waren darin drei Arten zu unterscheiden: 1. in der Mehrzahl Streptococcen; 2. Kurzstäbchen häufig; 3. seltener feine Bacillen, wahrscheinlich mit den Bienstock'schen identisch.

Die Bouilloneulturen vom Dickdarm aus nahmen bald einen stinkenden Geruch und grüne Fluorescenz an, beides durch die Streptococcen hervorgerufen. Sie verflüssigten auch Gelatine, die gleichfalls grün fluorescirte.

Das in Reincultur isolirte Kurzstäbchen war nicht verflüssigend und entsprach

[1]) Referat im Centralblatt für Bacteriologie 6. 114. Jahrg. 1889.

in seinem morphologischen Verhalten dem Bacterium coli commune. Auf den Platten wuchsen auch Bacillen, die, in Bouillon gezüchtet, Fäulnissgeruch entwickelten, jedoch ohne Fluorescenz.

Zwei Wochen später wurde der Versuch wiederholt, jedoch als die Patientin per rectum Eierklystier erhielt. Mikroskopisch war das Bild nicht wesentlich abweichend von dem bei leerem Dickdarm, nur waren relativ weniger Streptococcen vorhanden. Alle Proben des Dickdarminhalts in Bouillon und Gelatine hatten einen widrigen Fäulnissgeruch und die Mehrzahl der Colonien auf den Platten bestand aus einem nicht fluorescirenden Fäulnissbacillus.

Es geht also aus unserer chemischen und bacteriologischen Untersuchung hervor, dass unter normalen Verhältnissen im menschlichen Dünndarm das Eiweiss in der Regel gar nicht oder ausnahmsweise in ganz geringer Menge zersetzt wird. Die im Dünndarm befindlichen Mikroben zersetzen vorzugsweise die Kohlehydrate unter Bildung von Aethylalkohol, der beiden Milchsäuren, Essigsäure und Bernsteinsäure. Diese Producte sind auch direct aus dem Dünndarminhalt von uns isolirt worden. Das Eiweiss wird nur im menschlichen Dickdarm zersetzt unter Bildung der bekannten, hauptsächlich von uns isolirten Producte. Schon Ewald sagte, auf Grund seiner Beobachtungen an seinen Fistelpatienten, „es sei unzulässig, eine andere Quelle des Indicans und Phenols als den unteren Darmabschnitt anzunehmen“. Das Gleiche gilt auch bezüglich des Schwefelwasserstoffs und des Methylmercaptans. Zur Illustration dieses Ausspruchs können wir folgende Thatsache anführen. Vor etwas mehr als 10 Jahren wurde auf der hiesigen chirurgischen Klinik versuchsweise statt Phenol das Wismuthnitrat als Antisepticum angewendet. Es war nun interessant, bei den Leichen der mit Wismuth behandelten Patienten zu sehen, wie mit einem scharfen Rande von der Ileocoecalklappe ab die ganze Dickdarmschleimhaut schwarzes sammtartiges Aussehen hatte, während die Schleimhaut des ganzen Dünndarms nur geröthet war. Wie die Untersuchung zeigte, war die schwarze Färbung der Mucosa durch entstandenes Schwefelwismuth verursacht. Das Fehlen jeder Schwärzung auf der Schleimhaut des Ileums ist ein Zeichen, dass daselbst kein Schwefelwasserstoff entwickelt wurde.

Das Bild der im Dünndarm vorkommenden Mikroben scheint schon im gesunden Zustande je nach den Nahrungsstoffen und ihrer Zubereitung ein wechselndes zu sein. So constant wie die Leptothrixfäden im Munde oder das Bacterium coli commune im Dickdarm scheinen keine Arten an den Dünndarm gebunden zu sein. Ein charakteristisches Merkmal aber für die den Dünndarm bewohnenden Spaltpilze ist es, dass sie vorzugsweise nicht Eiweiss, sondern Kohlehydrate zersetzen. Wie viel von den Zuckerstoffen des Dünndarms der Bacterienzersetzung anheimfällt, können wir nicht genau angeben; auch wird dies davon abhängig sein, ob die den Zucker energisch vergährenden Mikroben, wie z. B. der Streptococcus ilei oder das Bacterium lactis aërogenes, prävaliren. Die aus dem Zucker entstandenen organischen Säuren sind es, welche die Acidität des aus dem Magen kommenden Chymus derart vermehren, dass weder das Alkali der Galle, noch das des pankreatischen Saftes und der ganzen Dünndarmmucosa hinreicht, um den Speisebrei zu neutralisiren. Eine ungefähre Vorstellung von der Menge des zur Neutralisation der Säuren von der

Darmschleimhaut gelieferten Alkalis geben die Aschenanalysen des Speisebreies. Wir haben dieselben sowohl bei vorwiegender Fleischnahrung, als wie auch nach Erbsenmus ausgeführt und stellen die Resultate darüber in beifolgender Tabelle zusammen. Bezüglich der Details der einzelnen Bestimmungen bemerken wir Folgendes:

Der zunächst auf dem Wasserbade, sodann bei 100° getrocknete Darminhalt lässt sich leicht pulvern und hinterlässt, auf Platinblech verbrannt, eine stark alkalisch reagirende Asche, die mit Salzsäure unter Aufbrausen Kohlensäure entwickelt. Zur Bestimmung des Eisens, der Kieselsäure, der alkalischen Erden und der Alkalien wurden 12.8828 g des Trockenrückstandes nach Fleischgenuss im Platintiegel mit möglichster Vorsicht verkohlt, geglüht und die in Wasser löslichen Aschebestandtheile mit Wasser ausgelaugt, das Filtrat in einer Platinschale verdunstet und schwach ausgeglüht. Die auf dem Filter zurückgebliebene Kohle wurde unter Zusatz von etwas salpetersaurem Ammon vollkommen weiss geglüht und nach dem Wägen mit der in Wasser löslichen Asche vereinigt und in verdünnter Salzsäure gelöst. Der Aschegehalt des trockenen Rückstandes betrug hier 8.33 Proc., wovon 2.07 Proc. in Wasser löslich und 6.26 Proc. in Wasser unlöslich waren. Die Bestimmung des Eisens, der Kieselsäure und der Basen geschah nach den üblichen analytischen Methoden. Die Lösung der Chloralkalien wurde so oft eingedampft, bis sie keine Spur von Baryt mehr enthielt. Zur Bestimmung des Chlors, der Schwefel- und der Phosphorsäure wurden 30.9412 g des gleichen Trockenrückstandes, entsprechend 2.5774 g Asche, in 1 proc. Salpetersäure gelöst, vom Ungelösten abfiltrirt und bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrat ausgewaschen. Filtrat sammt Waschwasser wurde auf 800 ccm verdünnt und je 200 ccm zur Bestimmung der drei Säuren verwendet. Durch die Bestimmung der Säuren auf nassem Wege wurde jeder Verlust an Chlor, andererseits ein Plus an Schwefelsäure vom Schwefel des Eiweisses und an Phosphorsäure vom Phosphor des Lecithins vermieden. Auf ganz gleiche Weise wurde die Aschenanalyse im Darminhalt der Patientin nach Ernährung mit Erbsenmus ausgeführt. Die folgende Tabelle veranschaulicht den Procentgehalt der einzelnen Aschebestandtheile:

Nach Fleischdiät Gehalt des festen Rückstandes an Asche = 8.33 Proc.		Nach Ernährung mit Erbsen Gehalt des festen Rückstandes an Asche = 8.60 Proc.	
in 100 Theilen Asche gefunden			
CaO	29.58 Proc.	CaO	21.71 Proc.
MgO	4.65 „	MgO	6.09 „
Na_2O	31.53 „	Na_2O	30.94 „
K_2O	3.83 „	K_2O	6.45 „
Fe_2O_3	0.31 „	Fe_2O_3	0.44 „
SiO	0.73 „	SiO	0.87 „
Cl	7.75 „	Cl	4.84 „
SO_3	1.22 „	SO_3	0.47 „
P_2O_5	14.46 „	P_2O_5	10.68 „
	94.06 Proc.		82.49 Proc.

Die erhaltenen Zahlen sind in mancher Hinsicht interessant. In beiden Analysen ist die Summe der Säuren bedeutend kleiner, als wie die Summe der Basen. Nehmen wir an, dass in der ersten Aschenbestimmung sämmtliches Chlor als Kochsalz, die

Schwefelsäure als SO_4Na_2 und die Phosphorsäure als PO_4HCa enthalten sei, so bedarf es, um die Mineralsäuren zu binden, 7.7 g Na_2O und 11.40 g CaO. Der Rest der Basen, nämlich 18.18 Proc. CaO, 4.65 Proc. MgO, 3.83 Proc. K_2O und 23.83 Proc. Na_2O, ist an organische Säuren gebunden. Danach sind 39.54 Proc. der Basen an Mineralsäuren, der Rest mit organischen Säuren gebunden. Vertheilen wir in gleicher Weise die Mineralsäuren an Basen nach Erbsenernährung, so bedarf es zur Bindung der Säuren 4.54 g Na_2O und 8.42 g CaO. Der Rest der Basen: 13.29 Proc. CaO, 6.09 Proc. MgO, 26.4 Proc. Na_2O und 6.4 Proc. K_2O, sind an Kohlensäure und organische Säuren gebunden, demnach nur 19.9 Proc. der Basen sind an Mineralsäuren, der Rest an organische Säuren gebunden. Gegenüber den Salzen mit organischen Säuren tritt nicht allein der Gehalt an Kochsalz, sondern auch der aller Mineralsalze zurück. Die Abgabe des Alkalis an den Speisebrei ist gewiss eine wichtige und bis jetzt nicht berücksichtigte Function der Darmmucosa und als eine richtige Neutralisation des sauren Darminhalts von wesentlicher Bedeutung für die normale Dünndarmverdauung. Liefert die Schleimhaut zu wenig Alkali, so müsste consequenter Weise eine Hyperacidität des Darminhalts entstehen, wobei das abgesonderte Mucin sofort, ohne mit Speisebrei sich zu vermischen, auf der Darmschleimhaut niedergeschlagen wird, ebenso auch die Gallensäuren. Es müssten sowohl die Verdauung wie die Resorption leiden, und wir haben in der That gesehen, dass stark diarrhoeischer, dünnflüssiger Darminhalt auch den höchsten Zucker- und Säuregehalt hatte. Umgekehrt würde eine alkalische Reaction des Dünndarminhalts faulige Zersetzung daselbst zur Folge haben. Da das Alkali von der Mucosa als Carbonat geliefert wird, so stammt ein Theil der CO_2 der Dünndarmgase aus der Neutralisation durch den sauren Speisebrei. Der andere Theil, sowie der im Dünndarm auftretende Wasserstoff entstehen durch Gährung des Zuckers.

Dass es die Säuren sind, welche im Magen und Dünndarm nicht allein die Eiweissgährung verhindern, sondern auch die Zersetzung der Kohlehydrate einschränken, das ergeben sowohl die früheren Versuche [1]), als wie auch neuerdings besonders die zu dem Zwecke von uns angestellten. Als wir Bouillon mit so viel Säure versetzten, dass sie titrimetrisch bestimmt 1 pro mille Milch- oder Essigsäure enthielt, und sie dann mit den von uns aus dem Dünndarm isolirten Bacterien inficirten, war die Flüssigkeit bei Bruttemperatur zwei Tage lang klar und das Wachsthum blieb gänzlich aus. Von hier aus in Nährgelatine übergeimpft, waren sie alle noch lebensfähig. Die beiden Säuren von obiger Concentration haben sie nicht abgetödtet und wirkten nur entwickelungshemmend.

In scheinbarem Widerspruch dazu ist die Thatsache, dass nicht allein im Darm, wo der Säuregrad auf Essigsäure bezogen durchschnittlich 1 pro mille beträgt, sondern auch im Magen, wo die freie Salzsäure noch stärkere antiseptische Wirkung ausübt, zahlreiche Spaltpilze vorkommen. Auch hat der eine [2]) von uns durch Versuche an

---

[1]) N. Sieber, Journ. f. prakt. Chemie **19**, 433, 1879. — Nencki's Opera omnia **1**, 452 und Wilhelm Thol, Ueber den Einfluss nicht aromatischer, organischer Säuren auf Fäulniss und Gährung. Inaug.-Diss. Greifswald 1885.

[2]) A. Macfadyen, The behaviour of bacteria in the digestive tract. Journal for Anatomy and Physiology **21**, 227.

Hunden, die bekanntlich einen stärkeren Säuregehalt im Magen als der Mensch haben, gezeigt, dass verschiedenartige Bacterien, wie z. B. der Mikrococcus tetragenus, Staphylococcus aureus und der Bacillus der Kaninchensepticämie, den Magen lebensfähig passiren und aus dem Dünndarminhalt isolirt werden können. Kommabacillen zeigten eine grössere Empfindlichkeit, doch gelang es, auch diese lebendig aus dem Dünndarm zu erhalten.

Der Grund hiervon ist nach unserer Ansicht zunächst darin zu suchen, dass verschiedene Mikroben gegen Säureeinwirkung verschieden empfindlich sind. Im Allgemeinen sind diejenigen, welche Kohlehydrate zersetzen, resistenter als die, welche die Eiweissgährung bewirken. Von den mit der Nahrung aufgenommenen Mikroben wird sicher ein grosser Theil davon im Magen vernichtet. Die schädliche Einwirkung der Säure findet auch im ganzen Dünndarm statt, so dass wir bei wiederholten Ueberimpfungen aus dem Dünndarminhalt nie fäulnissbewirkende Bacterien isoliren konnten, was doch aus dem Dickdarm der gleichen Frau so leicht möglich war. Offenbar gelangen in den Dickdarm nur vereinzelte Sporen der Eiweissgährung bewirkenden Mikroben, die sich dort einnisten und vermehren. Es kann sein, dass ausnahmsweise der Dickdarminhalt sauer reagirt. So oft wir frische Fäces gesunder und kranker Menschen untersuchten, war die Reaction alkalisch.

Eine zweite Ursache, weshalb vereinzelte Spaltpilze der schädlichen Einwirkung der Säure entgehen, ist mehr mechanischer Natur. Man kann bei Thieren, namentlich bei grösseren Pflanzenfressern, wie z. B. bei Pferden, die nach reichlichem Futter durch Verblutung getödtet wurden, leicht constatiren, dass die Magenschleimhaut hier stark sauer reagirt, und die gleiche Reaction hat auch der der Wandung anliegende Speisebrei. Untersucht man aber von der Wandung schon entferntere Stellen, oder prüft man den Speisebrei aus der Mitte der Magenhöhle, so reagirt derselbe entweder neutral oder gar alkalisch. Nicht alle Theile des Speisebreies kommen durch die peristaltische Bewegung in derart innige Berührung mit der Schleimhaut, dass die Säure derselben die in den einzelnen Partikelchen vorhandenen Spaltpilze abtödten könnte. Dass die Galle und die Gallensäuren keine erhebliche antiseptische Wirkung haben, ist ebenfalls von einem von uns gezeigt worden (Macfadyen, l. c.). Auch wuchsen die von uns isolirten Darmbacterien sehr üppig auf Nährgelatine, der 2 Proc. Galle zugesetzt wurden.

Bei unserer Patientin wurde erst am 13. November, also genau ein halb Jahr nach Anlegung der Fistel, durch Prof. Kocher der Dünndarm mit dem Dickdarm wieder vereint. Die Heilung verlief sehr günstig, am neunten Tage nach der Operation erfolgte der erste Stuhlgang per rectum, die Frau befand sich anhaltend wohl und nachdem sie noch am 19. December der cantonalen Aerztegesellschaft vorgestellt war, wurde sie als geheilt entlassen. Sechs Monate also war bei dieser Frau der Dickdarm ausser Thätigkeit gesetzt; denn abgesehen von einzelnen Klystieren von Pepton und Eiern, die ihr dargereicht wurden, um die Resorption vom Dickdarm aus zu untersuchen, war derselbe von der Verdauung ausgeschlossen. Interessant ist es, zu erfahren, wie viel von der Nahrung im Magen und Dünndarm verdaut und resorbirt wird, und welchen Antheil daran der Dickdarm hat. Die Patientin erhielt täglich:

in 260 g Brot	16.2 g	Eiweiss	=	2.6 g	Stickstoff	[1])
„ 100 g Fleisch . . .	20.8 g	„	=	3.33 g	„	[2])
„ 200 g Griesbrei . .	3.21 g	„	=	0.514 g	„	[3])
„ 2 Eiern	12.55 g	„	=	2.0 g	„	[4])
„ 20 g Pepton . . .	9.57 g	„	=	1.53 g	„	[5])
„ 100 g Milch	3.41 g	„	=	0.547 g	„	[6])
„ 1050 g Bouillon . . .	5.0 g	„	=	0.081 g	„	[7])
in Summa:	70.74 g	Eiweiss	=	10.602 g	Stickstoff.	

Bei dieser Diät war der Stickstoffgehalt im Trockenrückstande des Darminhalts nach den oben mitgetheilten Zahlen 5.39 und 6.78 Proc., im Mittel also 6.08 Proc. Durch die Fistel flossen bei dünnflüssigem Inhalt im Maximum 550 g mit 4.9 Proc. festen Stoffen; bei dickbreiigem 232 g mit 11.23 g festem Rückstand. Der durchschnittliche Gehalt an festen Stoffen war also in 24 Stunden = 26.5 g und darin 1.61 g Stickstoff = 10.06 g Eiweiss. Da nun die Frau in ihrer Nahrung täglich 70.74 g Eiweiss erhielt, so folgt daraus, dass nur der siebente Theil des Nahrungseiweisses oder genau 14.25 Proc. für die Verdauung und Resorption im Dickdarm übrig blieb, während 85.75 Proc. vom Magen und Dünndarm aus resorbirt wurden. Kohlehydrate wurden nicht in dem Maasse resorbirt; sie unterliegen der Zersetzung im Dickdarm und dann auch in erheblichem Grade durch die Gährungsmikroben. Bei einigermaassen grösserer Zufuhr werden sie unverändert ausgeschieden, wie dies aus dem Befund nach Eingabe von Erbsenmus hervorgeht. Aehnlich verhalten sich die Kohlehydrate nach den bekannten Analysen von Bischoff und Voit[8]) im Darm des Fleischfressers. Bei reiner Fleischkost entleerte ihr kräftiger Versuchshund in 24 Stunden 27 bis 40 g Koth, dessen fester Rückstand etwa 12.9 g betrug, selbst wenn die Fleischmenge zwischen 500 bis 2500 g schwankte. Der Fleischkoth ist dunkelschwarz, zäh wie Pech oder fest und wird nur in mehrtägigen Intervallen entleert, während bei Brotkoth täglich wenigstens einmal eine Defäcation stattfand. Auf Fütterung mit Brot wird sehr viel mehr Koth entleert, an festen Bestandtheilen $^1/_6$ bis $^1/_8$ der Nahrung betragend. So kamen in der ersten Versuchsreihe von Bischoff und Voit auf den Tag nach 857 g verfütterten Brotes mit 460 g festen Theilen 377 g Koth mit 76 g festen Theilen, also auf 100 g Brot 16.6 g Koth. Das Aussehen des Brotkothes ist gelbbraun, krümelig; er reagirt stark sauer und färbt sich mit Jodlösung intensiv blau. Die procentische Zusammensetzung des Brotkothes,

[1]) Nach J. König, Die menschlichen Nahrungsmittel. S. 335.

[2]) In dem Fleisch, wie es die Patientin erhielt, von uns bestimmt.

[3]) Auch hier haben wir den Stickstoff direct bestimmt und durch Multiplication mit dem Coëfficienten 6.25 das Eiweiss berechnet.

[4]) Ein Ei = 50 g und darin der Eiweiss- und Stickstoffgehalt nach König, l. c. S. 178.

[5]) Nach einer Analyse von Pouchet, die der Originalverpackung des „Pepton Kemmerich" beigelegt ist.

[6]) Vergl. König, l. c. S. 203.

[7]) Die Fleischbrühe (Bouillon), die unsere Patientin bekam, enthielt 2.5 Proc. festen Rückstand und 0.162 Proc. Stickstoff. Wir nehmen an, es sei darin nur die Hälfte des gefundenen Stickstoffs in Form von Eiweiss und Pepton, die andere in Form von Fleischbasen (Kreatin u. s. w.) enthalten, daher 0.081 g N = 5.0 g Eiweiss.

[8]) Die Gesetze der Ernährung des Fleischfressers. Leipzig u. Heidelberg 1860, S. 290.

verglichen mit der des Brotes, ergiebt auch, dass der Brotkoth nahezu unverändertes Brot ist, das der Verdauungsapparat nicht zu bewältigen vermochte, während die Zusammensetzung des Fleischkothes weit davon differirt, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

	Brot in Proc.	Brotkoth in Proc.	Fleisch in Proc.	Fleischkoth in Proc.
C	45.51	47.39	51.95	43.44
H	6.45	6.59	7.18	6.47
N	2.39	2.92	14.11	6.50
O	41.63	36.08	21.37	13.58
Salze	4.12	7.02	5.39	30.01

Wir haben bei unserer Patientin durch Klystiere vom Rectum aus zu bestimmen gesucht, wie viel von eingeführten Nahrungsstoffen im Dickdarm zurückgehalten und resorbirt wird. Zur Injection kamen das Pepton von Kemmerich und Eier mit physiologischer Kochsalzlösung zu einem Brei angerührt. Von wesentlicher Bedeutung war dabei die Menge der injicirten Flüssigkeit, indem bei grösseren Mengen dieselbe durch die obere (Ileocoecal-)Fistel ausfloss. So erhielt die Patientin am 28. Juni 100 g Pepton in 100 ccm Wasser gelöst in zwei Portionen in Form von Klystier. Ein Theil ist durch die Fistelöffnung ausgeflossen. Sechs Stunden nach der Injection wurden etwa 30 g Fäces entleert, alkalisch reagirend, von dem specifischen Geruch nach Skatol mit zahlreichen Trippelphosphatkrystallen. Bei Wiederholung des Versuchs erhielt daher die Frau nur 80 g Pepton in 80 ccm physiologischer Salzlösung gelöst in zwei Portionen in einem Zeitintervall von vier Stunden. Jetzt wurde die ganze injicirte Peptonmenge zurückbehalten und auch in den nächsten Tagen fand keine Entleerung vom Rectum aus statt. Das Gleiche war der Fall am 19. Juli, wo die Patientin 5 Eier (mit 0.6 proc. NaCl-Lösung zu einem Brei angerührt und auf 250 ccm gebracht) in 3 Portionen per rectum erhielt. Auch jetzt floss nichts von der oberen Dickdarmöffnung aus und die Frau hatte keine Stuhlentleerung. 30 bis 40 g Eiweiss wurden also im Dickdarm zurückbehalten und resorbirt.

Durch unsere Untersuchung wird eine vor mehreren Jahren von Pasteur[1]) angeregte Frage, über die Nothwendigkeit der Spaltpilze bei der Zersetzung der Nahrungsstoffe im Darmcanal, zunächst für den Menschen in verneinendem Sinne beantwortet. Pasteur berichtete an die Pariser Akademie über Versuche von E. Duclaux, das Keimen pflanzlicher Samen, welche von Mikroben befreit und in sterilisirten Nährboden ausgesäet wurden, betreffend. Der Nährboden enthielt keine salpetersauren und salpetrigsauren Salze und kein Ammoniak, sondern war mit sterilisirter Milch und in anderen Versuchen mit sterilisirtem Rohrzucker oder Stärkekleister getränkt. Den Pflanzensamen wurden also keine einfachen Kohlen- und Stickstoffverbindungen, wie wir sie als nothwendig zu ihrem Wachsthum kennen, sondern complexe organische Verbindungen, wie sie eben in der Milch enthalten sind, geboten. Das Resultat dieser Versuche war, dass nach 1- bis 2 monatelangem Verweilen der

[1]) Compt. rend. **100**, 66.

Samen in solchem Nährboden und bei Abhaltung von Mikroorganismen aus der Luft die Milch unverändert blieb. Sie war nicht einmal coagulirt und ihr Caseïn nach wie vor durch Säure fällbar.

Die ausgesäeten Samen verhalten sich genau so wie bei den bekannten Culturen von Boussingault in destillirtem Wasser. Ihr Trockengewicht wurde immer geringer, und zwar um so mehr, je länger der Keimling in dem Boden vegetirte. Auch als der sterilisirte Boden mit Candiszucker oder Stärkekleister getränkt wurde, blieb das Wachsthum der Pflanzen aus. Duclaux schliesst mit Recht daraus, dass das Wachsthum und Leben der Pflanzen im Boden nur bei Gegenwart der Mikroben möglich ist, welche die noch immer complicirt zusammengesetzten Bestandtheile des Düngers in die einfachsten Verbindungen, wie Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, salpeter- und salpetrige Säure, verwandeln und sie erst so für den Pflanzenkeimling verwerthbar machen.

Pasteur knüpfte an die Mittheilung Duclaux's folgende Bemerkungen: „Seit Jahren habe ich oft mit jüngeren Gelehrten meiner Umgebung darüber gesprochen, wie interessant es wäre, ein junges Thier (Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Huhn) von der Geburt ab mit reinen Nährstoffen zu ernähren, darunter meine ich Nährstoffe, die künstlich und vollständig von allen Mikroben befreit wären.

Ohne etwas Bestimmtes voraussagen zu wollen, verhehle ich nicht, dass, wenn ich Zeit hätte, diese Versuche auszuführen, ich sie unternehmen würde mit dem vorgefassten Gedanken, dass das Leben unter diesen Bedingungen unmöglich wäre.

Sollten sich in ihrem Laufe derartige Versuche vereinfachen lassen, dann könnte man vielleicht probiren, zu erforschen, wie sich die Verdauung durch systematischen Zusatz zu den reinen Nährstoffen von diesen oder jenen der verschiedenen Mikroben gestalten würde.

Ohne erhebliche Schwierigkeiten würde sich zu derartigen Experimenten das Hühnerei eignen. Man müsste in dem Moment vor dem Auskriechen das Ei aufs Sorgfältigste von jedem Staub reinigen und das ausgekrochene Huhn sofort in einen von allen Mikrobenkeimen freien Raum bringen, in einen Raum, in welchen man reine Luft einleiten und reine Nahrung (Wasser, Milch, Körner) hineinbringen könnte.

Sei nun das Resultat positiv, d. h. die oben ausgesprochene Voraussicht bestätigend, oder negativ, selbst im umgekehrten Sinne, d. h. dass dann das Leben leichter und selbstthätiger wäre, auf alle Fälle wäre die Ausführung des Versuchs von hohem Interesse.“

Der eine von uns [1]) hat schon damals sich dahin ausgesprochen, dass der Satz: „Kein Pflanzenleben in der Natur ohne das Leben der Mikroben“, wohl von Niemandem bezweifelt wird. Was dagegen die von Pasteur proponirten Versuche betrifft, glaubte er, wenigstens bezüglich der Wirbelthiere, behaupten zu können, dass die von Pasteur hierüber vorgefasste Meinung eine irrige ist.

Wir haben gesehen, dass der vom Magen kommende saure Speisebrei im Dünndarm nicht neutral oder alkalisch wird, sondern seine saure Reaction bis zur Ileo-

[1]) M. Nencki, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 387, Jahrg. 1885. — Nencki's Opera omnia **1**, 838.

coecalklappe behält. In Folge der sauren Reaction bleibt die Eiweisszersetzung durch Mikroben meistens gänzlich aus oder findet nur an einzelnen Tagen in kaum merklicher Weise statt. Selbst die Einwirkung des Pankreatins auf Eiweiss im Dünndarm wird durch die Säure geschwächt. Die durch Digestion von Trypsin mit Eiweiss in vitro leicht erhältlichen Spaltungsproducte des letzteren — Leucin und Tyrosin — waren im Dünndarminhalt nicht aufzufinden. Die Zersetzung des Speisebreies durch die Mikroben ist hier auf die Kohlehydrate beschränkt, wobei aus Zucker die beiden Milchsäuren, Essigsäure, Bernsteinsäure, Kohlensäure, Aethylalkohol und Wasserstoff entstehen, und wie unsere Aschenanalysen beweisen, ist es eine wichtige Function der Dünndarmmucosa, fortwährend Alkalicarbonat zu liefern, um die durch Gährung des Zuckers entstandenen Säuren zu neutralisiren. Nun wird aber schwerlich Jemand behaupten, dass diese Gährungsproducte für den Unterhalt unseres Lebens nothwendig sind. Vielmehr ist es als Verlust zu betrachten, dass ein Theil der durch das pankreatische Enzym aus Stärke entstandenen Dextrose nicht resorbirt wird, sondern den parasitären Spaltpilzen als Nahrung dient. Die Anhänger der absoluten Alkoholabstinenz müssen es beklagen, dass durch die von uns untersuchten Mikroben des Dünndarms und das Bacterium commune des Dickdarms eine merkliche Menge Alkohol in unserem Leibe entsteht und dass wir in Folge dessen nie vollkommene Temperenzler sein können. Die etwaige Spaltung des Fettes durch Spaltpilze kommt hier nicht in Betracht. Der eine von uns [1]) hat gezeigt, dass die Gegenwart von Spaltpilzen die Fettzerlegung im Darm nicht wesentlich beeinflusst. Durch die schönen Untersuchungen von Immanuel Munk wissen wir übrigens, dass etwa 90 Proc. des Nahrungsfettes als Neutralfett resorbirt werden und dass freie Fettsäuren schon in der Darmwand zu Neutralfett werden. Gerade mit Rücksicht auf die Arbeiten Munk's glaubten wir von einer eingehenden Untersuchung der Zusammensetzung des Fettes im Darminhalt unserer Patientin absehen zu dürfen.

Volle sechs Monate hat die Frau mit Ausschluss der Dickdarmverdauung gelebt. Sie hat dabei an Körpergewicht zugenommen und, wie aus der folgenden Tabelle (S. 213) über die tägliche Harnstoffausscheidung ersichtlich ist, vermehrte sich der Stickstoffumsatz stetig. Die heruntergekommene Patientin hat anfänglich Eiweiss angesetzt und erst allmählich näherte sich die Stickstoffausfuhr im Harn der Stickstoffzufuhr durch die Nahrung. Da eine erhebliche Zersetzung des Speisebreies durch die Mikroben erst im Dickdarm stattfindet, der im vorliegenden Falle ausgeschlossen war, so ist es bewiesen, dass wir ohne Mithülfe der Spaltpilze die Nahrungsstoffe einzig durch unsere Verdauungssäfte derart modificiren und zur Resorption vorbereiten, wie es für die zweckmässige Erhaltung des Lebens nothwendig ist.

Gleich wie im Magen, so auch im Dünndarm wirkt die darin enthaltene Säure auf die Mikroben entwickelungshemmend und es ist gewiss ein Vortheil für unsere normale Verdauung, dass wenigstens in den oberen Abschnitten des Verdauungsschlauches die Mitwirkung der Spaltpilze an der Zersetzung des Speisebreies dadurch eingeschränkt ist. In pathologischen Fällen kann die saure Reaction des Speisebreies nicht allein im Dünndarm, sondern sogar im Magen alkalisch werden und die faulige

[1]) M. Nencki, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 374. — Nencki's Opera omnia **1**, 828.

Zersetzung des Speisebreies gehört zu den schwersten Störungen der Magenverdauung. Betrachtet man aber die Gährungsproducte des Eiweisses im Dickdarm, wie das Indol, Skatol, Phenol, Milchsäuren, flüchtige Fettsäuren, aromatische Säuren, daneben Ammoniak und die organischen Basen, ferner die Gase: Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan, so ist unschwer einzusehen, dass alle diese Producte keine Nahrungsstoffe sind. Der Organismus bedarf ihrer nicht, sie sind ihm im Gegentheil, sobald sie in grösserer Menge im Darm entstehen, schädlich und lästig. Was wir für den Menschen durch unsere Untersuchung als bewiesen erachten, gilt wohl auch für andere Wirbelthiere, obgleich hier die Verhältnisse, z. B. bei den Pflanzenfressern und namentlich den Wiederkäuern, wo schon im Pansen die Gährung der Nahrungsstoffe stattfindet, complicirter sind und scheinbar für die Nothwendigkeit der Mikroben sprechen.

Tabelle über die Harnstoffausscheidung der Patientin M. Spycher vom 15. Juni bis 2. August 1890.

(Die Harnstoffbestimmungen wurden nach Hüfner's Methode ausgeführt.)

Tag	24stündige Harnmenge in ccm	Spec. Gew.	Harnstoff in Proc.	Harnstoff in 24 Stunden in g
15. Juni	1260	1012	0.67	8.51
16. "	1100	1011	0.736	8.09
17. "	ein Theil verloren gegangen	1010	0.916	—
19. "	1510	1010	0.906	13.68
20. "	830	1017	1.564	12.98
21. "	1010	1010	0.85	8.58
22. "	1220	1013	1.081	13.18
23. "	1240	1012	1.002	12.42
24. "	1730	1010	0.73	12.62
25. "	1150	1015	1.19	12.07
26. "	1020	1020	1.56	15.91
27. "	780	1017	1.644	12.82
28. "	1375	1015	1.394	19.23
29. "	1058	1012	0.9234	9.76
30. "	1060	1013	0.9234	9.78
1. Juli	782	1021	1.64	14.62
2. "	1225	1015	1.199	14.68
3. "	1450	1015	1.21	17.59
4. "	1390	1012	1.259	16.87
5. "	1000	1013	1.035	10.35
6. "	1800	1010	0.772	13.89
7. "	710	1020	1.56	11.07
8. "	1485	1013	1.12	16.63
9. "	1485	1013	1.07	15.88
10. "	920	1019	1.88	17.29
11. "	1200	1014	1.22	14.73
12. "	1260	1014	0.871	10.97

Tag	24stündige Harnmenge in ccm	Spec. Gew.	Harnstoff in Proc.	Harnstoff in 24 Stunden in g
13. Juli	1080	1012	1.028	17.27
14. „	1156	1014	1.24	14.33
15. „	1005	1017	1.624	16.32
16. „	955	1017	1.87	16.87
17. „	1170	1015	1.42	16.66
18. „	700	1025	1.59	11.13
19. „	1005	1020	1.59	15.97
20. „	1500	1015	0.877	13.15
21. „	1080	1013	1.038	11.24
22. „	1460	1014	1.19	17.40
23. „	1225	1018	1.57	19.23
24. „	2004	1010	0.913	18.84
25. „	2030	1010	0.786	15.95
26. „	1260	1012	1.16	14.61
27. „	1630	1013	1.09	17.76
28. „	985	1013	1.33	13.10
29. „	1690	1011	1.20	20.28
30. „	1020	1014	1.36	13.91
31. „	1230	1014	1.23	15.12
1. August	1540	1013	1.37	21.09
2. „	890	1020	2.088	18.58

Reaction des Harnes war immer sauer.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel II.

Fig 1. Dünndarminhalt der Patientin nach Fleischnahrung.

Fig. 2. Dünndarminhalt nach vorwiegend stärkemehlhaltiger Nahrung; das Präparat mit Jod behandelt.

Tafel III.

Fig. 1. a) Tiefere Colonie auf der Gelatineplatte des Bacterium Bischleri bei schwacher Vergrösserung. b) Die einzelnen Mikroben in Reincultur bei starker Vergrösserung.

Fig. 2. a) Oberflächliche Colonie des Bacterium iiei Frey. b) Reincultur der Bacterien.

Fig. 3. a) Oberflächliche Colonie des Bacillus liquefaciens ilei. b) Die einzelnen Stäbchen in Reincultur.'

Fig. 4. a) Braungefärbte Colonien auf der Gelatine des Bacterium ovale ilei, b) Reincultur der Bacterien.

Fig. 5. a) Gelatinecolonien des mit dem Bacterium lactis aërogenes (Escherich) wahrscheinlich identischen Kurzstäbchens. Oberflächlich weisse, glänzende, in den tieferen Schichten gelblich-weisse runde Punkte. b) Reincultur des Kurzstäbchens.

Fig. 6. Reincultur des Bacillus gracilis ilei.

Fig. 7. Der Streptococcus ilei liquefaciens.

Die Colonien auf der Tafel III sind nach den Bildern mit Zeiss' Ocular IV, Objectiv A, die Reinculturen nach Ocular IV, homogene Immersion $^1/_{12}$ gezeichnet.

Beitrag zur Kenntniss der Mikroben des Dünndarms

von

V. Bovet.

Annales de Micrographie 3, 353. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. hat in einem Falle von Enteritis mit schweren Choleraerscheinungen aus dem Dünndarm eine Bacillenart isolirt, die folgende Eigenschaften aufwies:

Kurzes Stäbchen von 1 bis 1.5 μ Breite und 2 bis 4 μ Länge; leicht beweglich, wächst nie zu längeren Fäden aus, Aërobier, sein Wachsthum bei 37° am üppigsten. Färbt sich gut mit Carbolfuchsin, Safranin, Bismarckbraun. Der Mikrobe ist nicht identisch weder mit solchen Formen wie Bact. coli commune, Bacil. Finkler-Prior, Bact. lactis aërogenes, noch mit jenen, welche im vorigen Artikel von Macfadyen, Nencki und Sieber beschrieben sind. Er hat grosse Aehnlichkeit mit einer Art von Bacil. strumitidis Taveli, nur ist seine Form etwas länger und seine pathogene Wirkung viel geringer. Eiweiss wird gar nicht oder fast gar nicht von ihm angegriffen. Der Mikrobe wächst auf der Stärke, ohne dabei Zucker zu bilden. Zuckersubstrate zerlegt er und als Producte dieser Zerlegung wurden Kohlensäure, inactive Milchsäure, Bernsteinsäure und Aethylalkohol nachgewiesen.

Ueber die Stoffwechselproducte zweier Euterentzündung veranlassender Mikroben: des Bacillus Guillebeau a und des Streptococcus mastitidis sporadicae

von

M. Nencki.

Landwirthschaftliches Jahrbuch der Schweiz 5, 69.

Von den von Prof. Guillebeau bei Eutererkrankung der Kühe und Ziegen isolirten und im 4. Bande des Landwirthschaftlichen Jahrbuches der Schweiz, Seite 32, beschriebenen Mikroben ist bereits einer, nämlich der Bacillus Guillebeau c, in meinem Laboratorium von Herrn Dr. Macfadyen auf seine Stoffwechselproducte untersucht und sind die von ihm erhaltenen Resultate im Landw. Jahrbuch der Schweiz 1900 beschrieben worden[1]. Im Folgenden will ich die Resultate ähnlicher Untersuchungen zweier anderer Mikroben beschreiben, nämlich des Bacillus Guillebeau a und des

[1] Landw. Jahrbuch der Schweiz 4, 64. — Dieser Band S. 160.

Streptococcus mastitidis sporadicae, welche in meinem Laboratorium von Herrn Dr. A. Bischler und Herrn Dr. S. Dzierzgowski[1]) ausgeführt wurden.

Wie aus der citirten Arbeit Guillebeau's bekannt, ist der Bacillus Guillebeau a die häufigste Ursache der parenchymatösen Euterentzündung, des sogenannten „Viertels", und er wurde auch bei sporadischem Galt und vorübergehendem Milchgries gefunden. Unter 86 Fällen von Eutererkrankungen wurde er 20 Mal nachgewiesen. Dieser Bacillus ist ebenfalls, wie der Bacillus c, nach den Untersuchungen von Herrn v. Freudenreich die Ursache der Käseblähung.

Wie oben erwähnt, kommt dieser Mikrobe bei der parenchymatösen Mastitidis vor, und da nach den Analysen von Schaffer und Bondzyński[2]) bei dieser Erkrankung vor allem der Milchzucker in der Milch entweder vorübergehend oder für längere Zeit stark vermindert, in einzelnen Fällen sogar gänzlich verschwunden ist, so wurde zunächst die Zersetzung des Zuckers durch diesen Mikroben untersucht.

Der Bacillus Guillebeau a ist ein Kurzstäbchen, ungefähr 1 μ breit und 1.2 μ und darüber lang. Die längsten Bacillen erhält man auf Milchagar. Bouillon wird durch ihn gleichmässig getrübt, und bei Zuckerzusatz findet Gasentwickelung statt. Die Gelatine wird durch ihn nicht verflüssigt. Nach unseren Beobachtungen bildet er darauf zähe, offenbar durch aufgequollene Zellmembran zusammenhängende Colonien, die jedoch nicht stark fadenziehend sind. Der Bacillus ist ein facultativer Anaërobe und vergährt, wie aus nachfolgender Untersuchung ersichtlich, Zucker und Glycerin zu Aethylalkohol unter gleichzeitiger Bildung von Wasserstoff, Essigsäure und Kohlensäure. Um die Gährungsproducte zu untersuchen, wurde folgende Nährlösung hergestellt:

15 g Peptonum siccum (Chapoteau),
5 „ Kochsalz,
40 „ schwachgeglühtes $CaCO_3$,
100 „ krystallisirter Traubenzucker,
1500 „ Wasser.

Diese Nährlösung wurde zweimal bei 115° im Autoclaven sterilisirt, am 21. Juli 1890 mit einer Reincultur des Bacillus Guillebeau a geimpft und, nachdem die Luft aus dem Kolben durch Kohlensäure verdrängt war, bei Bruttemperatur stehen gelassen. Schon am nächsten Tage fand starke Gasentwickelung statt. Acht Tage später, am 29. Juli, nachdem die Gasentwickelung nachgelassen hatte, wurden 60.2 ccm des Gases aufgefangen und analysirt. Dasselbe bestand nur aus Kohlensäure und Wasserstoff und zwar in Volumprocenten 73.09 Proc. CO_2 und 26.91 Proc. H. Der Kolbeninhalt wurde erst nach drei Monaten, am 20. October 1890, untersucht. Derselbe stellte eine dickflüssige, gummiartig klebrige Masse dar. Durch mikroskopische Untersuchung und Ueberimpfen wird die Reinheit der Cultur festgestellt. Die klebrige Beschaffenheit der Flüssigkeit rührt von dem aufgequollenen Pilzschleim her, welcher durch Eisenchlorid gefällt wird. Die Flüssigkeit wird von dem Eisenniederschlage abgepresst, der Niederschlag auf dem Filter gut ausgewaschen, die ab-

[1]) Seine Inaugural-Dissertation, „Ueber die Stoffwechselproducte des sporadischen Galt bewirkenden Streptococcus Mastitidis sporadicae", Bern 1891.

[2]) Landw. Jahrbuch der Schweiz **4**, 54.

gepresste Flüssigkeit sammt Waschwasser mit Soda neutralisirt, von dem überschüssig zugesetzten und jetzt durch Soda gefällten Eisenoxyd von Neuem filtrirt und der Destillation unterworfen. Da das Destillat starke Jodoformreaction giebt, so wird die Destillation bis zum Verschwinden derselben fortgesetzt, die übergegangene Flüssigkeit unter Zusatz von etwas Pottasche von Neuem destillirt und hierauf aus dem Destillate durch Uebersättigen mit trockener Pottasche der Alkohol abgeschieden. Ueber Aetzkalk getrocknet und rectificirt, ging der Alkohol bis auf einen geringen Rest zwischen 77 und 78° über; es war demnach fast reiner Aethylalkohol, wovon 15 ccm erhalten wurden.

Nach Entfernung des Alkohols wurde die vergährte Flüssigkeit mit Schwefelsäure angesäuert und behufs Isolirung der flüchtigen Fettsäuren von Neuem destillirt. Das Destillat, mit Soda genau neutralisirt, wurde auf dem Wasserbade bis zu beginnender Krystallisation eingedampft. Es krystallisirte ein Salz heraus von ganz einheitlichem Habitus, dem essigsauren Natron ähnlich. Dieses Salz, dessen Menge etwa 6 g betrug, wurde aus heissem Wasser umkrystallisirt und durch Fällung mit Silbernitrat in das Silbersalz verwandelt. 0.2306 g dieses Silbersalzes hinterliessen nach dem Glühen 0.1484 g Ag = 64.35 Proc. Ag. Essigsaures Silber enthält 64.67 Proc. Ag. Es wurde demnach nur reine Essigsäure erhalten.

Der nach Entfernen der Essigsäure hinterbliebene, schwefelsäurehaltige Retortenrückstand wurde noch etwas auf dem Wasserbade concentrirt und hierauf mit Aether ausgeschüttelt. Nach Abdestilliren des Aethers aus dem Aetherextracte hinterblieb eine syrupöse Säure, welche, mit Zinkhydroxyd gekocht, sich als die optisch active Paramilchsäure erwies.

0.2220 g des lufttrockenen Salzes verloren bei 110° 0.0288 g an Gewicht und hinterliessen nach dem Glühen 0.0641 g ZnO. Gefunden 12.97 Proc. Krystallwasser und 28.87 Proc. ZnO. Die Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ verlangt 12.9 Proc. Krystallwasser und 29 Proc. ZnO. Die Menge des erhaltenen Zinksalzes betrug etwa 1 g.

Gleichzeitig mit dem anaërobiotischen Versuch, nämlich am 21. Juli 1890, wurde eine sterile, zuckerhaltige Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

Pepton sicc.	10 g
NaCl	5 „
$CaCO_3$	30 „
Traubenzucker	70 „

in einem Liter Wasser gelöst, hergestellt und mit dem Bacillus Guillebeau a geimpft. Der Kolben, nur mit einem Wattepfropfen verschlossen, blieb bis zum 20. October im Brutkasten stehen, an welchem Tage er untersucht und sein Inhalt auf ganz gleiche Weise wie in dem anaërobiotischen Versuche verarbeitet wurde. Auch hier war der Kolbeninhalt von dem aufgequollenen Pilzschleim dickflüssig und zähe, sogar noch stärker als wie bei Luftausschluss. Die Menge des erhaltenen Alkohols war bedeutend geringer, sie betrug nur 2 ccm. Der grösste Theil ging zwischen 77 bis 78° über, ein ganz geringer erst bei über 100°. Die flüchtige Fettsäure war ebenfalls nur Essigsäure. Gefunden 64.1 Proc. Ag in dem Silbersalze. Auch hier war die Menge der erhaltenen Milchsäure gering. Von dem Zinksalze wurde

weniger als ein Gramm erhalten und die Säure durch Krystallwasser- und Zinkbestimmung als die optisch active constatirt. Gefunden 12.92 Proc. H_2O und 28.7 Proc. ZnO.

Die gleichen Producte wie aus Zucker bildet der Bacillus Guillebeau a auch aus Glycerin. Von Dr. Bischler wurde folgende Nährlösung hergestellt und nach dem Sterilisiren mit dem genannten Mikroben geimpft:

Glycerin	90 g
Pepton	12 g
NaCl	6 g
$CaCO_3$	30 g
Wasser	1250 g

Der Kolben wurde mit Wattepfropfen verschlossen und bei Luftzutritt im Thermostaten am 29. Juli 1890 aufgestellt und am 20. October 1890 untersucht. Die Cultur erwies sich durch mikroskopische Untersuchung und durch Ueberimpfen als rein, doch war die Flüssigkeit nicht so zähe und dickflüssig wie in den Versuchen mit Zucker. Auch war die Menge des durch Fe_2Cl_6 entstandenen Niederschlages nur gering. Die auf gleiche Weise verarbeitete Nährlösung ergab 5 ccm zwischen 77 bis 78° siedenden Aethylalkohols, ebenso reine Essigsäure und in ähnlicher Menge wie aus Zucker optisch active Milchsäure. Nach Extraction der Milchsäure mit Aether hinterblieben noch 21 g unveränderten Glycerins, das durch alle Reactionen als solches identificirt wurde.

Es geht also aus dieser Untersuchung hervor, dass der Bacillus Guillebeau a energisch Kohlehydrate und Glycerin vergährt, und die aufgefundenen Gährungsproducte erklären einerseits den Schwund des Milchzuckers in der Milch bei der parenchymatösen Mastitidis, sowie auch die von Herrn v. Freudenreich beobachtete Blähung beim Reifen des Emmenthaler Käses.

Von Professor Guillebeau wurde uns eine Reincultur des von ihm als Streptococcus mastitidis sporadicae bezeichneten Mikroben übergeben, mit der Bitte, die Gährungsproducte desselben zu untersuchen. Es sind dies Coccen, lange und kurze Ketten bildend, welche Gelatine nicht verflüssigen, auf Kartoffeln nicht wachsen, sehr gut dagegen in Bouillon, worin sie anfangs milchige Trübung, später weissen Bodensatz bilden. Milch wird nach kurzer Zeit durch diese Coccen sauer und gerinnt. Alte Culturen bewirken eine Veränderung der amphoteren Reaction, bringen aber die Milch nicht zur Coagulation. Die Coccen sind facultative Anaëroben.

Die Veränderungen, welche dieser Streptococcus bei der als sporadischer Galt bezeichneten Eutererkrankung verursacht, sind von Prof. Hess und von den Herren Schaffer und Bondzyński ausführlich in dem 4. Bande des Landw. Jahrbuches der Schweiz S. 55 u. ff. beschrieben. Die Milch enthält bei dieser Euterkrankheit weniger Zucker. Vermehrt ist der Wasser- und Eiweissgehalt, ebenso vermehrt das Kochsalz, vermindert Phosphorsäure und Kali. Die Untersuchung der Gährungsproducte dieses Mikroben wurde von Herrn Dr. S. Dzierzgowski ausgeführt.

20 g Pepton Chapoteau, 10 g Kochsalz und 100 g krystallisirten, amerikanischen Traubenzuckers wurden in zwei Liter Wasser gelöst, der Flüssigkeit, zur Neutralisation der etwa gebildeten Säure, 20 g frisch geglühtes Calciumcarbonat zugesetzt und nach dreifacher Sterilisation im Autoclaven bei 115° C. mit einer Bouillonreincultur des Streptococcus inficirt. Die Culturen wurden bei Luftzutritt mit Wattepfropfen verschlossen und im Thermostaten bei 38° stehen gelassen. Bei den anaërobiotischen Culturen wurde die Luft durch die Kohlensäure verdrängt. Schon am zweiten Tage nach der Impfung wurden auf der Oberfläche der aërobisch und anaërobisch aufgestellten Nährlösungen viele Gasbläschen sichtbar.

Folgende Tabelle zeigt die Menge und Zusammensetzung des bei Luftausschluss entweichenden Gases:

Datum des Aufstellens des Eudiometers	Zeit, in welcher das Gas gesammelt wurde	Menge des Gases in ccm	Zusammensetzung	Gasmenge pro Stunde
19. April	3 Stunden	68.1	100 Proc. CO_2	22.7
26. „	4.5 „	82.4	100 „ „	18.3
3. Mai	8 „	75.2	100 „ „	9.4

Nach vier Wochen wurde die Gährung unterbrochen. Die Reinheit der Cultur wurde durch das Mikroskop und die Lebensfähigkeit durch Ueberimpfen in Bouillon constatirt. Vor Allem bestimmte man durch Filtration die Menge des zurückgebliebenen Zuckers. Es ergab sich, dass bei Luftzutritt 38 g, bei Luftabschluss 30 g Zucker zerlegt wurden.

Die Verarbeitung der aërobiotisch und anaërobiotisch zersetzten Nährlösungen geschah auf ähnliche Weise, wie bei der Untersuchung der Spaltungsproducte des Bacillus Guillebeau a. Zunächst wurde der gelöste Kalk durch Oxalsäure vollkommen ausgefällt, das Filtrat mit Soda neutralisirt. Das Destillat gab mit Jod und Kalilauge Spuren von Jodoform, und es liess sich aus der durch wiederholte Destillation concentrirten Flüssigkeit durch Pottasche keine Spur von Alkoholen aussalzen. Von den flüchtigen Fettsäuren wurden ebenfalls nur sehr geringe Mengen erhalten. Allem Anscheine nach ein Gemisch von Essigsäure und Buttersäure. Die erhaltenen Natronsalze wurden in Silbersalz verwandelt und das letztere analysirt. Der Silbergehalt des Salzes der aërobiotischen Cultur war 60.19 Proc., der der anaërobiotischen 61.08 Proc. Ag. Essigsaures Silber enthält 64.3 Proc. Ag, propionsaures 59.7 Proc. Ag. Die erhaltenen Zahlen stehen demnach auch dem propionsauren Salze näher. Doch war, wie erwähnt, die Menge der erhaltenen flüchtigen Fettsäuren zu gering, um zu entscheiden, ob hier wirklich Propionsäure oder ein Gemisch von Buttersäure und Essigsäure vorlag. Von den flüchtigen Säuren fand sich nur die optisch-active Milchsäure, deren Zinksalz linksdrehend ist, vor. Aus der Cultur bei Luftzutritt wurden 12 g, aus der bei Luftabschluss 8.5 g des Zinksalzes erhalten.

Genau wie Traubenzucker wird durch die Streptococcen des sporadischen Galtes auch der Milchzucker zerlegt. Eine Nährlösung bestehend aus 20 g Pepton,

10 g NaCl, 40 g CO_3Ca und 100 g Milchzucker in zwei Liter Wasser wurde nach der Sterilisation mit den Coccen geimpft und aërobiotisch vier Wochen lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Als Gährungsproducte wurden erhalten: Spuren des die Jodoformreaction gebenden Körpers, kleine Mengen flüchtiger Fettsäure, deren Silbersalz 58.96 Proc. Silber enthielt und 5.2 g linksdrehendes, milchsaures Zink, 0.7422 g des lufttrockenen Zinksalzes verloren bei 100° 0.0929 g an Gewicht = 12.53 Proc. und hinterliessen nach dem Glühen 0.1263 g ZnO = 26.75 Proc. Zn. Auch aus Glycerin wurden die gleichen Producte erhalten. Wir inficirten mit den Coccen eine mit 5 Proc. Glycerin und 2 Proc. Calciumcarbonat versetzte, sterile Rinderbouillon und liessen bei Bruttemperatur und Luftzutritt den Kolben zwei Wochen lang stehen. Darauf wurde die Cultur mikroskopisch und durch Ueberimpfung auf ihre Reinheit und Lebensfähigkeit geprüft. Die chemische Analyse wurde ganz ebenso, wie in den früheren Versuchen, ausgeführt und die erhaltenen Producte waren ganz mit den bei Trauben- und Milchzuckergährung erhaltenen identisch. Wir bekamen auch hier eine unisolirbare Menge des Jodoformreaction gebenden Körpers, kleine Mengen flüchtiger Fettsäuren, deren Silbersalz 62.15 Proc. (0.3014 Salz = 0.1863 Ag) Silber enthielt und schliesslich eine ziemlich grosse Menge von rechtsdrehender Milchsäure, deren linksdrehendes Zinksalz bei der Analyse 12. 90 Proc. Wasser und 26.73 Proc. Zink ergab (0.4236 Sub. = 0.0546 H_2O und 0.1132 Zn).

Um die eventuelle amylolytische Wirkung der Coccen zu prüfen, wurde klare, neutrale Rinderbouillon mit 2 Proc. reiner Stärke versetzt und zunächst durch Kochen die Stärke zum Aufquellen gebracht, sodann die Flüssigkeit in zwei Theile getheilt. Den ersten vertheilten wir in 12 sterile Reagensgläser und den zweiten kochten wir so lange, bis alle Stärke in Amylodextrin umgewandelt und in Lösung gegangen war; dann wurden von der Lösung je 10 ccm in 12 andere sterile Reagensgläser vertheilt. Zu jedem der 6 Stärkebouillon und 6 Amylodextrinbouillon enthaltenden Reagensgläser setzten wir je 0.5 g geglühten kohlensauren Kalk zu, verstopften sie mit Wattepfropfen, sterilisirten, impften alle auf einmal und liessen sie im Thermostaten bei 37° stehen.

Alle Tage wurden je vier Reagensgläser auf den Zuckergehalt mit Fehling'scher Lösung geprüft. Das Ergebniss war, dass weder Stärke noch Amylodextrin von den Mastitidiscoccen bei Gegenwart oder Abwesenheit Säure absorbirender Mittel verzuckert wurde.

Um zu sehen, ob die Coccen des sporadischen Galtes Fett zerlegen, wurde frische Butter durch Kochen mit Calciumcarbonat zunächst von flüchtigen Fettsäuren befreit. Um sie ferner von Eiweissresten zu befreien, wurde sie mit Aether extrahirt und im Filtrate der Aether verdunstet. Jetzt wurde das Butterfett im Gewichte von 4 g auf 100 g Rinderbouillon und etwas Calciumcarbonat gemischt, dann die so bereitete Nährlösung zweimal bei 115° sterilisirt, mit den Coccen geimpft und bei Luftzutritt und Bruttemperatur stehen gelassen. Nach vier Wochen wurde der Kolbeninhalt untersucht. Es fanden sich keine an Calcium gebundene höhere Fettsäuren und das Fett war unverändert.

Um zu sehen, ob etwa Eiweiss durch die Coccen zerlegt werde, wurde 1 kg

fein zerhacktes Rindfleisch mit zwei Liter Wasser übergossen, dreimal bei 115° sterilisirt und mit den Coccen geimpft. Nach siebenwöchentlichem Stehen bei Bruttemperatur wurde der geruchlose Kolbeninhalt von dem unzersetzt gebliebenen Fleisch filtrirt und das Filtrat in zwei Theile getheilt. Der eine Theil wurde durch Chamberland'sche Filter filtrirt, im Vacuum bei 35° zum Syrup verdunstet und auf eventuelle Enzyme oder Toxalbumine geprüft. Das Ergebniss war, dass die Mastitidiscoccen keine Toxalbumine oder hydrolytisch wirkende Enzyme absondern, weil das eingedampfte Filtrat keine auflösende Wirkung auf Fibrin oder Eiereiweiss zeigte. Es coagulirte frische Kuhmilch nicht und verzuckerte auch nicht die Stärke. Subcutan den Kaninchen injicirt, hatte es keine toxische Wirkung. Da die Zersetzungsproducte der Nährlösung keinen schädlichen Einfluss auf den Organismus hatten, so war es interessant, zu sehen, ob die Coccen selbst nicht pathogen sind. Es wurden daher 2 ccm einer Aufschwemmung der Reincultur einem Kaninchen subcutan injicirt. Das Thier blieb gesund. Es wurden nun wiederholt Injectionen in die Bauchhöhle und in die vordere Augenkammer bei Kaninchen, jedoch ohne schädlichen Erfolg, gemacht, so dass die Mastitidiscoccen als nicht pathogen zu betrachten sind. Prof. Guillebeau und Dr. Macfadyen[1]) fanden, dass die durch den Bacillus Guillebeau c vergährte Milch bei Katzen starke Diarrhoe verursache. Wir fütterten daher eine $4^1/_2$ Wochen alte Katze mit der durch Mastitidiscoccen vergährten Milch mehrere Tage lang. Das Thier trank die Milch nicht sehr gerne, doch bekam es keine Diarrhoe.

Der andere Theil des Eiweissfiltrates wurde ähnlich wie die vergährten Zuckerlösungen verarbeitet. Wir erhielten Spuren einer jodoformbildenden Substanz, flüchtige Fettsäuren und Ammoniak. Da hier etwas grössere Mengen der flüchtigen Fettsäuren erhalten wurden, so theilten wir die rein abdestillirten Säuren in zwei Portionen und fällten aus der einen die Säure mit Silbernitrat, die andere condensirten wir mit Guanidin. Das Silbersalz enthielt 61.75 Proc. Ag. Das Guanamin in Alkali gelöst und umkrystallisirt, zeigte unter dem Mikroskop zweierlei Krystalle, die nach ihrer Form Acetoguanamin und normales Butyroguanamin sein könnten.

Man kann hieraus den Schluss ziehen, dass die kleinen Mengen der jodoformbildenden Substanz und die flüchtigen Fettsäuren, die bei der Zersetzung des Zuckers und des Glycerins erhalten wurden, von der Zersetzung der Albumosen der angewandten Bouillon herrührten und die Kohlehydrate und Glycerin nur in Kohlensäure und Milchsäure gespalten werden.

Nach den Angaben der Herren Schaffer und Bondzyński können die Veränderungen in der Milch der am sporadischen Galt erkrankten Kühe so gross sein, dass zuweilen Zucker vollständig und Fett bis auf 0.5 Proc. verschwinden können. Es war daher von Interesse, das Verhalten der Coccen gegen Milch zn prüfen. Sterile Milch wird durch die Coccen zur Gerinnung gebracht; aber selbst beim längeren Stehen war ausser der Zunahme des Säuregrades keine weitere Veränderung zu bemerken. In einem Falle betrug der Säuregrad 11.2 Proc. Soxhlet oder 0.72 g pro 1000 auf HCl berechnet. Als wir aber der Milch 2 Proc. Calciumcarbonat

[1]) Dieser Band S. 160.

zufügten, fand eine lebhafte Gasentwickelung statt und die Zersetzungsproducte waren identisch mit den früher aus Zucker erhaltenen, d. h. Kohlensäure und Paramilchsäure. Es geht hieraus hervor, dass die anfänglich gebildete Säure der weiteren Entwickelung der Coccen schadet. Wird die freie Säure durch Neutralisation, wie in unserem Versuche, oder durch Resorption, wie in der lebenden Drüse, entfernt, dann kann ungehindert viel Milchsäure auf Kosten des Milchzuckers entstehen.

Die hier erhaltenen Resultate lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen:

1) Streptococcus Mastitidis sporadicae bildet aus Traubenzucker, Milchzucker und Glycerin Kohlensäure und rechtsdrehende Milchsäure.

2) Bei der Einwirkung auf Eiweissstoffe und Peptone entwickeln die Coccen Spuren einer jodoformbildenden Substanz, Essigsäure, Buttersäure und Ammoniak.

3) Die Coccen wirken nicht auf Stärke und Fette und bilden keine Enzyme oder Toxalbumine.

4) Milch, in welcher die Coccen reichlich vorhanden sind, ist nicht pathogen und

5) Die Coccen selbst sind für Kaninchen nicht pathogen.

Bekanntlich sind die in pathologischer Hinsicht wichtigen Streptococcen, nämlich der Streptococcus pyogenes, Erysipelatos und Scarlatinae, in ihrem Verhalten gegen Nährboden, Färbemittel und sonstige diagnostische Merkmale so ähnlich, dass sie von verschiedenen Bacteriologen für identisch gehalten werden. Nach den in meinem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen sind sie allerdings nicht identisch und zwar auf Grund ihres chemischen Verhaltens, da sie Eiweiss und Kohlehydrate in verschiedener Weise zersetzen. Da auch der Streptococcus Mastitidis in mancher Hinsicht den oben genannten pathogenen Streptococcen ähnlich ist, so war es von Interesse, zu erfahren, ob die letzteren nicht ebenfalls Euterentzündung hervorrufen.

Die Versuche, die wir im Laufe dieses Sommers an Ziegen angestellt haben, haben diese Frage in positivem Sinne entschieden. Reinculturen des Streptococcus pyogenes, der Coccen des Scharlachs und des Erysipels, in die Milchdrüse injicirt, rufen einen acuten eiterigen Katarrh hervor, der namentlich bei Erysipel einen chronischen Verlauf mit Nachlässen und spontanen Exacerbationen nimmt. Ueber diese Untersuchungen, welche mit Rücksicht auf die Verbreitung und Infection von Scharlach und Rothlauf durch die Milch von besonderem Interesse sind, beabsichtige ich später ausführlich zu berichten.

Bern, im August 1891.

Beiträge zur Kenntniss des giftigen Princips der Jequiritysamen

von

Sophie Glinka.

Inaugural-Dissertation Bern. — Referirt von den Herausgebern.

Die giftige Substanz des Jequiritysamens von Abrus precatorius, das Abrusgift oder schlechtweg das Abrin, wurde von der Verfasserin in einer von Sydney-Martin abweichenden Weise dargestellt. Von der Rinde befreite Samen wurden mit 4 Proc. Chlornatriumlösung übergossen (etwa ein Liter 4 proc. Salzlösung auf 100 g Samen), sobald sie etwas aufgequollen waren, zerrieben, durch Chamberlandkerzen filtrirt und im Vacuum bei 40° C. bis auf 75 bis 80 ccm verdunstet. Die in beschriebener Weise erhaltene Lösung wurde in erster Linie auf Vorhandensein von Spaltpilzen und speciell von Jequiritybacillen (deren Existenz zur Zeit vorausgesetzt wurde) untersucht, und zwar wurde einerseits die Lösung von Abrin selbst im Thermostaten bei 37.5° C. stehen gelassen, andererseits von dieser Lösung Ueberimpfungen in sterile Bouillon gemacht. In beiden Fällen war jedoch das Resultat ein negatives.

Nur Lösungen, die sich als steril erwiesen hatten, wurden auf ihre giftige Wirkung an Thieren bei subcutaner und innerlicher Application geprüft [1]).

10 ccm einer hundertfach verdünnten Lösung wurden von 1470 g wiegenden Kaninchen bei innerlicher Eingabe schadenlos vertragen. Dagegen tödteten 2 ccm der gleichen Lösung, einem 2050 g wiegenden Kaninchen subcutan einverleibt, das Thier binnen $2^1/_2$ Tagen. Weitere Versuche erwiesen, dass sogar $^1/_{1000}$ ccm der hundertfach verdünnten Lösung binnen acht Tagen starke Abmagerung verursachten und letal wirkten.

Eine glycerinhaltige Lösung ergab, was ihre Giftigkeit anbetrifft, die nämlichen Resultate.

Die beobachteten Vergiftungserscheinungen waren folgende. Nach ein bis zwei Stunden steigt die Temperatur im Mittel auf 2 bis 3° C., wobei sie ihr Maximum nach 5 bis 6 Stunden erreicht und dann bis zum Tode auf 6 bis 7° C. unter die Norm sinkt. Der Appetit ist nur kurz vor dem Tode vermindert, sonst nicht; trotzdem magern die Thiere stark ab. Starkes Durstgefühl, Dyspnoë und Durchfall. Kurz vor dem Tode manchmal Parese der Extremitäten.

Sectionsbefund. Stark aufgetriebenes Abdomen. Lange nach dem Tode andauernde peristaltische Bewegung der Gedärme, deren Hauptveränderungen in stark ausgesprochener Hyperämie bestehen; Dünn- und Dickdarm sind diffus geröthet und infiltrirt; Peyer'sche Plaques geschwollen, stark infiltrirt, mit Hämorrhagien durchsetzt; Mesenterium stark injicirt. Im Magen ebenfalls starke Hyperämie, im

[1]) Im Ganzen wurde nur einmal nach Filtration durch die Chamberlandkerze eine Bacillen enthaltende Flüssigkeit, welche, was die toxische Dosis und Wirkung anbetrifft, sich wie die sterile verhielt, erhalten.

Fundus circumscripte Hämorrhagien. Schleimhaut zum Theil abgelöst, wobei die geröthete Magenwand zu Tage tritt. Leber und Milz vergrössert, hyperämisch. In der Blase trüber Harn mit rothen und weissen Blutzellen; der Harn eiweisshaltig, manchmal in bedeutendem Maasse. An den Lungen keine constanten Veränderungen, zuweilen Infarcte. Bei langdauernden Fällen Hyperämie aller inneren Organe und subcutane Hämorrhagien.

Chemische Eigenschaften der Lösung. Kochen und fünf Minuten langes Erwärmen auf 100° C. im Wasserbade vernichtet die Giftigkeit der Lösung ganz und gar. Eben so langes Erwärmen auf 80° zerstört die Giftigkeit nicht vollkommen, schwächt sie aber bedeutend ab. Eine Dosis von $^1/_{200}$ ccm ist nicht mehr wirksam, wohl aber eine solche von $^1/_{100}$ ccm. Erwärmen auf 75° C. im Laufe von fünf Minuten beeinträchtigt die Giftigkeit nicht. 10 Proc. Alkoholzusatz schlägt das Abrin nieder, wobei das giftige Princip vernichtet, d. h. in eine ungiftige Modification umgewandelt wird. Weder Niederschlag noch Filtrat wirken giftig.

Im Vacuum eingeengte Abrinlösung besitzt saure Reaction, coagulirt beim Aufkochen. Salzsäure ruft Bildung eines in Soda löslichen Niederschlages hervor. Die Lösung zeigt sämmtliche Eiweissreactionen; so z. B. verursachen Essigsäure und Ferrocyankalium, die Heller'sche Probe, die Bildung eines Niederschlages; auch die Xanthoproteïnreaction fällt positiv aus. Auf Zusatz von $CuSO_4$ wird die Lösung grün; Zusatz von NaOH hierzu ruft dunkelblaue Färbung hervor. Die Biuretreaction auf Pepton fällt negativ aus. Mit dem Millon'schen Reagens erhält man einen starken Niederschlag, welcher sich beim Erwärmen röthet. Platinchlorid sowie KJ rufen nicht sofort, wohl aber beim Stehen einen Niederschlag hervor. Gesättigte Pikrinsäurelösung, sowie 10 proc. alkoholische Sublimatlösung und auch Phosphormolybdänsäure geben sofort starke Fällungen.

Auf proteolytische oder saccharificirende Wirkung geprüft, ergab die Lösung ein negatives Resultat. Es wurde weder Zucker aus der Stärke gebildet, noch Fibrin gelöst. Ein ebenso negatives Resultat wurde mit dem Loew'schen Reagens bei Prüfung auf den Gehalt an Aldehydgruppen erzielt. Im Vacuum bei Zimmertemperatur verdunstet, hinterlässt die Lösung einen Rückstand, welcher, auf dem Platinblech verbrannt, sich stark aufbläht und zu Anfang nicht genau definirbare, später aber nach verbranntem Horn riechende Dämpfe giebt.

Die Lösung wirkt auf Wasserstoffsuperoxyd katalytisch ein. Durch Zusatz von Blausäure, Chloralhydrat und Chloralcyanhydrin wird diese katalytische Wirkung abgeschwächt und zuletzt aufgehoben.

Die wässerige, sowie die glycerinhaltige Lösung wird durch langes Stehen etwas abgeschwächt. 1 ccm der glycerinhaltigen Lösung enthält 0.089 g organischer Bestandtheile, also 8.9 Proc. 5 ccm der gleichen Lösung enthalten 0.0645 g Eiweiss. In 75 ccm der Lösung, welche 100 g geschälter Paternostersamen entsprechen, wäre also, vorausgesetzt, dass alles in der Hitze coagulirende Eiweiss Abrin repräsentirt, der Abringehalt = 0.967 Proc.

Mit Steinsalz lässt sich das giftige Princip im Laufe von 24 Stunden in Form eines flockigen Niederschlages ausscheiden. Das Filtrat verliert hierbei seinen charakteristischen, für Abrin specifischen Erbsengeruch, sowie auch seine giftige

Wirkung; der Niederschlag hingegen wirkt giftig. Beim Auflösen in einer 4 proc. Salzlösung löst sich die giftige Substanz nicht mehr ganz auf, weil sie allem Anscheine nach in eine ungiftige Modification umgewandelt ist, d. h. sie besitzt die Eigenschaften des Eiweisses, dessen Asche hauptsächlich aus phosphorsaurem Kalk besteht. Nach Verdunsten der durch Sieden vom Eiweiss befreiten Abrinlösung erhält man eine krystallinische, aschefreie, N- und S-haltige Substanz, welche ungiftig ist und folgende Eigenschaften besitzt. Sie krystallisirt in weissen Prismen; die Krystalle sind in Wasser, Alkohol und ClH-haltigem Alkohol unlöslich; dagegen lösen sie sich beim Sieden in NaOH auf und sind aus dieser Lösung nicht durch ClH fällbar. Die Menge der Substanz war zu gering, um diese genau zu definiren. Die von den Krystallen abfiltrirte Mutterlauge besitzt reducirende Eigenschaften; mit Fehling'scher Lösung, mit Phenylhydrazin aufgekocht, giebt sie einen gelbrothen Niederschlag. Auch Pikrinsäure ruft Niederschlagsbildung hervor.

Auf Grund aller von ihr angestellten Versuche kommt Verfasserin zu dem Schluss, dass die Abrinwirkung eine rein toxische und nicht eine auf Infection beruhende, durch Anwesenheit der vermutheten specifischen Bacillen zustandekommende ist.

Ueber die chemische Natur des wirksamen Stoffes im Koch'schen Tuberculin

von

Martin Hahn.

Berliner klin. Wochenschr. Nr. 30. — Nach dem Referate von Dr. Kerry abgedruckt. Maly's Jahresber. **21**, 484.

Verf. untersuchte gereinigtes Tuberculin (Klebs) und Koch'sche Lymphe. Er kommt zu dem Resultat, dass das wirksame Agens eine Albumose ist. Er erhält dieselbe aus der wässerigen Lösung des gereinigten Tuberculins nach ihrer Neutralisation durch Ausfällen mit Ammoniumsulfat. Dabei entsteht ein flockiger, weissgelber Niederschlag, welcher nach der Reinigung folgende Reactionen giebt: 1. beim Kochen mit Millon'schem Reagens Rothfärbung; 2. keine Fällung beim Kochen und Ansäuern; 3. Fällung mit HNO_3, Lösung im Ueberschuss, orangerothe Färbung mit NaOH; 4. starker gelber Niederschlag mit Pikrinsäure; 5. schwache Trübung mit Ferrocyankalium und Essigsäure; 6. deutliche Biuretreaction; 7. gelber Niederschlag mit Bromwasser. Die so nachgewiesene Albumose diffundirt gegen destillirtes Wasser und giebt beim Versuche an Thier und Menschen die charakteristischen Erscheinungen. Der mit Ammoniumsulfat fällbare Körper ist kein Enzym (negatives Verhalten gegen Fibrin und Stärke), was vorauszusehen war, da er hohes Erhitzen verträgt. Verf. glaubt, die Albumose sei der Träger der Wirksamkeit, nicht (wie Wassermann und Proskauer bei dem Toxalbumin der Diphtherie vermutheten) ein ihr beigemengter unbekannter Körper.

Das Gallacetophenon als Ersatz des Pyrogallols

von

L. Rekowski.

Therapeut. Monatshefte, September. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. hatte eine genaue Untersuchung der physiologischen Wirkung des Gallacetophenons, $CH_3\,CO\,C_6H_2(OH)_3$, vorgenommen. Der Körper wurde von Prof. Nencki dargestellt[1]) und später von der badischen Anilin- und Sodafabrik als Alizaringelb Marke C in die Färberei eingeführt. Nach seiner Zusammensetzung stellt dieser Körper ein Trioxybenzol vor, er enthält im Kerne ausser den drei Hydroxylen noch ein Methylketon. Zuerst wurde die Ungiftigkeit dieses Körpers an Thieren erprobt. Tägliche Dosen bis 4 g konnte ein Hund von 20 kg Körpergewicht längere Zeit ohne irgend welche pathologische Störungen vertragen. Das Gallacetophenon passirt den Organismus ohne sich zu zersetzen und wird als gepaarte Schwefelsäure und Glycuronsäure ausgeschieden. In einer 1 proc. Concentration wirkt es hemmend auf Fäulniss von Fleisch oder Pankreas. Was die klinischen Versuche betrifft, so hat Prof. Intz in einigen Fällen von Psoriasis diesen Körper anstatt des Pyrogallols angewandt und befriedigende Resultate damit erzielt.

Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers durch Erysipelcoccen

von

I. Salberg.

Inaugural - Dissertation Bern. — Referirt von den Herausgebern.

Von der Voraussetzung ausgehend, dass die verschiedenen Mikroorganismen verschiedene, wo möglich specifische Producte aus dem ihnen zu Gebote stehenden Nährsubstrate zu bilden im Stande sind, wurden Versuche angestellt, um diese etwaigen Zersetzungsproducte, speciell die durch Erysipelcoccen im Traubenzucker gebildeten aufzufinden und ihre Natur festzustellen, um dadurch eventuell die betreffende Mikrobenart von verwandten Mikroben zu differenziren. Das Nährsubstrat war folgendes. Auf 2 Liter Wasser wurden 150 g Traubenzucker, 20 g Pepton Chapoteau, 60 g kohlensaurer Kalk genommen. Nach der Impfung mit Erysipelcoccen wurde die Luft mittelst CO_2 ausgetrieben. Am zweiten Tage begann eine starke Gasentwickelung. Die Untersuchung der aufgefangenen Gase ergab nur reine CO_2.

[1]) Journ. prakt. Chem. **23**, 151 u. 538. — Nencki's Opera omnia **1**, 574 u. 588.

Die folgende Gasanalyse wurde 20 Tage später, die dritte und letzte nach einem Monat ausgeführt; das Ergebniss dieser Analysen war dasselbe, d. h. es konnte nur die Anwesenheit von CO_2 und kein anderes Gas constatirt werden.

Nach Beendigung des Versuches wurde die Reinheit der Cultur geprüft, wobei man typische Erysipelcoccen constatirte, daraufhin die Flüssigkeit auf ihre Bestandtheile analysirt. Von den zugesetzten 150 g Traubenzucker wurden 52.2 g als unzersetzt durch Titration mittelst Fehling'scher Lösung zurück erhalten. Mittelst Oxalsäure wurde der in Lösung gegangene Kalk entfernt und, um zu ermitteln, welche flüchtigen Zersetzungsproducte entstanden waren, destillirt. Das sauer reagirende Destillat zeigte deutliche Jodoformreaction, welche nicht durch Anwesenheit von Alkohol, sondern durch Anwesenheit einer Substanz mit obstartigem Geruch verursacht war. Bei der Untersuchung stellte sich heraus, dass die Jodoform gebende Substanz von der bei der Destillation stattfindenden Zersetzung einer in heissem Wasser und Alkohol löslichen, in blätterigen Schuppen krystallisirenden Säure herstammt. Es ist dieses eine nicht flüchtige Säure, welche krystallinische Zinksalze giebt und wiederholt bei Zersetzung von Zucker durch verschiedene Mikroben in Reincultur im Laboratorium von Prof. M. Nencki beobachtet, stets aber in geringer Quantität erhalten worden ist.

Unter den flüchtigen Zersetzungsproducten des Traubenzuckers durch Erysipelcoccen konnte kein Alkohol, trotzdem nach ihm gesucht wurde, erhalten werden. Ebenso wenig gelang es, in Folge der zu geringen Quantität der erhaltenen flüchtigen Fettsäuren, ihre Natur festzustellen. Allem Anscheine nach war entweder Essig- oder Buttersäure anwesend. Nach Entfernung der flüchtigen Producte wurde der Rückstand auf dem Wasserbade abgedampft und wiederholt mit Aether extrahirt. Aus dem Aetherextract wurde nach Entfernung des Aethers, Aufnehmen mit Wasser und Kochen mit Zinkoxyd active Milchsäure, deren Zinksalz mit zwei Molekülen Krystallwasser krystallisirt, erhalten. Die Ausbeute war im Ganzen etwa 20 g milchsaures Zink.

Das aus Wasser umkrystallisirte Zinksalz gab bei der Analyse folgende Zahlen: 0.3227 g des lufttrockenen Zinksalzes verloren beim Trocknen bei 100° C. 0.0442 g an Gewicht und hinterliessen nach dem Glühen 0.0931 g ZnO, was, in Procenten ausgedrückt, 13.3 Proc. Krystallwasser und 26.81 Proc. Zn ausmacht. Bernsteinsäure konnte weder aus dem syrupösen Rückstande nach Entfernung der Milchsäure, noch aus dem zu Anfang entfernten kohlensauren Kalk dargestellt werden. Ueberhaupt konnten selbst nach Monate langer Versuchsdauer keine anderen krystallinischen Producte erhalten werden.

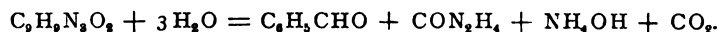
Ueber Benzylidenbiuret und Chlorbenzylidenthiobiuret

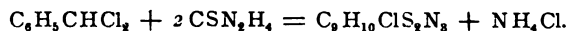
von

John J. Abel.

Americ. Chem. Journ. **13**, 114. — Nach dem Referate von Dr. Schertel abgedruckt. Ber. **24**, 325. Ref.

Angeregt durch die Arbeit von E. Lüdy [1]) versuchte Verf. eine in Wasser oder Alkohol unlösliche Harnstoffverbindung durch Einwirkung von Benzalchlorid ($C_6H_5.CHCl_2$) auf Harnstoff zu gewinnen. Es wurde Benzylidenbiuret erhalten, welches zur Bestimmung von Harnstoff zwar nicht tauglich ist, aber doch näher untersucht wurde. Die Vereinigung beider Substanzen erfolgt bei 198 bis 200° nach der Gleichung $C_6H_5CHCl_2 + 3\,CON_2H_4 = C_9H_9N_3O_2 + 2\,NH_4Cl + CNOH$. Das Biuret krystallisirt aus heissem Wasser entweder in grossen, glänzenden, rhombischen Prismen oder in Büscheln feiner Nadeln; ihre Zusammensetzung wurde durch Analyse und das Molekulargewicht nach Raoult's Methode festgestellt. Der Schmelzpunkt der Verbindung liegt bei 258°; bei derselben Temperatur tritt auch Zersetzung ein. Die Substanz ist schwer löslich in Phenol, heissem Wasser und Alkohol, sehr wenig in Aether und Chloroform. Die wässerige Lösung wird durch die meisten Metallsalze gefällt. Es liess sich nicht feststellen, ob das Benzyliden zwei Wasserstoffatome derselben Amidogruppe vertrete oder nicht. Wird Benzylidenbiuret mit Barytwasser gekocht, so spaltet es sich nach der Gleichung

$$C_9H_9N_3O_2 + 3\,H_2O = C_6H_5CHO + CON_2H_4 + NH_4OH + CO_2.$$

Benzalchlorid und Schwefelharnstoff wirken heftig auf einander. Lässt man die Reactionstemperatur 150° nicht überschreiten, so erhält man eine röthlichgelbe, körnige Masse, aus welcher man eine schneeweisse, krystallinische Verbindung der Zusammensetzung $C_9H_{10}ClS_2N_3$ gewinnt:

$$C_6H_5CHCl_2 + 2\,CSN_2H_4 = C_9H_{10}ClS_2N_3 + NH_4Cl.$$

Die Formel der vom Verf. Chlorbenzylidenthiobiuret genannten Verbindung wurde durch Analyse und Molekulargewichtsbestimmung (nach Raoult) ermittelt. Brodsky's [2]) Benzylidenbiuret wird bei der Reaction nicht gebildet. Die Untersuchung wird fortgesetzt.

[1]) Monatshefte f. Chem. **10**, 295. — Dieser Band S. 138.

[2]) Siehe diesen Band S. 69.

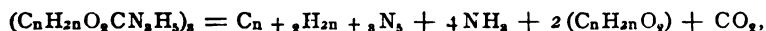
Zur Kenntniss der Guanamine

von

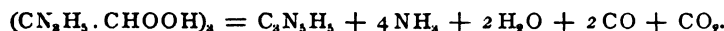
Carl Haaf.

Journ. prakt. Chem. 43, 75. — Inaug.-Dissert. „Ueber ein Verfahren zum Nachweis und zur Bestimmung flüchtiger Fettsäuren". Bern.

In den Berichten der d. chem. Gesellsch. zu Berlin [1]) hat M. Nencki eine homologe Reihe basischer Körper — der Guanamine — beschrieben, die durch Erhitzen der Guanidinsalze mit den einbasischen Fettsäuren auf 220 bis 230° entstehen und deren Bildung durch die allgemeine Gleichung:

$$(C_nH_{2n}O_2CN_3H_5)_3 = C_{n+2}H_{2n+3}N_5 + 4NH_3 + 2(C_nH_{2n}O_2) + CO_2,$$

ausgedrückt wird.

Bei dem ersten Gliede dieser Reihe, dem Formoguanamin, $C_3N_5H_5$, entsteht noch in Folge secundärer Spaltung der Ameisensäure Kohlenoxyd, so dass die Zersetzung des ameisensauren Guanidins bei 220 bis 230° sich in folgender Weise formuliren lässt:

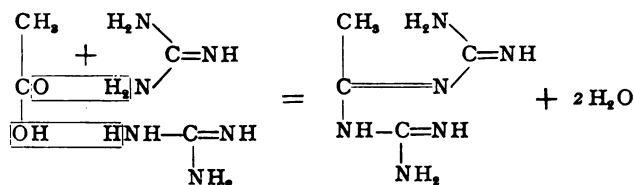
$$(CN_3H_5.CHOOH)_3 = C_3N_5H_5 + 4NH_3 + 2H_2O + 2CO + CO_2.$$

Von Nencki wurden so die Guanamine der Ameisensäure, der Essigsäure, der normalen und Isobuttersäure, und von Bandrowski [2]) die der Isovaleriansäure und der normalen Capronsäure dargestellt.

Die Guanamine sind leicht krystallisirende schwache Basen, die mit Säuren und mit Metallsalzen, wie Silbernitrat, Platinchlorid, Quecksilberchlorid, schön krystallisirende Verbindungen eingehen. In Wasser sind sie wenig löslich, und im Allgemeinen nimmt die Löslichkeit ab, je höher der Kohlenstoffgehalt dieser Basen ist. Nencki hat das Verhalten, speciell des Acetoguanamins, gegenüber oxydirenden und hydrolytischen Agentien näher untersucht und dabei eine Reihe Umwandlungsproducte erhalten, die die Aufklärung der chemischen Natur dieser Basen ermöglichten. Von Weith [3]) wurde dann ihre Constitution richtig erkannt. Sie entsprechen den von A. W. Hofmann entdeckten Basen, welche durch Einwirkung von primären Aminen auf Säuren sich bilden.

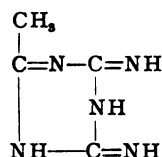
Die Entstehung des Acetoguanamins z. B. wird von Weith durch folgende Gleichungen veranschaulicht:

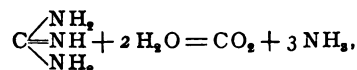
---

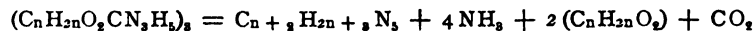
[1]) Ber. 7, 775 u. 1584; 9, 228. — Nencki's Opera omnia 1, 79, 84 u. 153.
[2]) Ber. 9, 240. — Nencki's Opera omnia 1, 164.
[3]) Ber. 9, 458.

$$\begin{array}{l} CH_3 \quad H_2N\diagdown \\ | \quad + \quad\quad C{=}NH \\ CO \quad H_2N\diagup \\ | \\ OH \quad HNH{-}C{=}NH \\ \quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad NH_2 \end{array} = \begin{array}{l} CH_3 \quad H_2N\diagdown \\ | \quad\quad\quad C{=}NH \\ C{=}{=}{=}N\diagup \\ | \\ NH{-}C{=}NH \\ \quad\quad | \\ \quad\quad NH_2 \end{array} + 2\,H_2O$$

Essigsäure + 2 Guanidinmoleküle

Durch Abspaltung von Ammoniak aus dem zunächst entstandenen Reactionsproduct bildet sich das Acetoguanamin:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C{=}N{-}C{=}NH \\ | \quad\quad | \\ | \quad\quad NH \\ | \quad\quad | \\ NH{-}{-}C{=}NH \end{array}$$

Nach diesen beiden Gleichungen entstehen neben Acetoguanamin zwei Moleküle Wasser und ein Molekül Ammoniak. Bei der hohen Hitze wirkt sodann das Wasser auf ein drittes Guanidinmolekül im Sinne folgender Gleichung:

$$C\begin{cases} NH_2 \\ NH \\ NH_2 \end{cases} + 2\,H_2O = CO_2 + 3\,NH_3,$$

wodurch dann die Bildung der Kohlensäure erklärt und der Verlauf der obengenannten Gleichung:

$$(C_nH_{2n}O_2CN_3H_5)_3 = C_{n+2}H_{2n+2}N_5 + 4\,NH_3 + 2\,(C_nH_{2n}O_2) + CO_2$$

entspricht.

Wie das Acetoguanamin das Radical $\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ C \end{array}$ = Aethenyl enthält, so findet sich in dem Formoguanamin das Radical CH = Methenyl und die entsprechenden Radicale in den kohlenstoffreicheren Homologen der Guanamine.

Wie schon erwähnt, sind die Guanamine durch ihre Krystallisationsfähigkeit ausgezeichnet, und ist die Krystallform der einzelnen Basen verschieden; ihre Bildung geht mit grosser Leichtigkeit vor sich. Es genügen 1 bis 2 g eines Guanidinsalzes einer flüchtigen Fettsäure, um das entsprechende Guanamin zu erhalten. Diese charakteristischen Eigenschaften gestatten daher durch Ueberführung einer flüchtigen Fettsäure in ihr Guanamin dieselbe sofort zu erkennen. In seinen Arbeiten über die Gährung hat Nencki wiederholt von dieser Reaction Gebrauch gemacht und gelegentlich einer Untersuchung der flüchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente hat Brieger[1]) mittelst dieser Methode die Gegenwart der Isobuttersäure darin nachgewiesen.

Das Guanamin der normalen Buttersäure ist in 7 Theilen heissen Wassers und in 53.7 Theilen bei 14.5° löslich. Rasch aus heisser Lösung abgeschieden, erhält man es in kugeligen Gebilden, während beim langsamen Erkalten oder Verdunsten der wässerigen Lösung es in viereckigen Tafeln krystallisirt.

[1]) Journ. prakt. Chem. [2] **17**, 124 (1878). — Nencki's Opera omnia **1**, 388.

Das Guanamin der Isobuttersäure dagegen ist erst in 48.6 Theilen siedend heissen Wassers und in 176.6 Theilen Wasser bei 18° löslich. Aus der wässerigen Lösung krystallisirt es in spitzen Rhomboëdern oder Prismen, so dass eine einzige mikroskopische Besichtigung der Krystalle genügt, um festzustellen, ob das Guanamin der normalen oder der Isobuttersäure vorliegt.

Es schien daher von Werth, die noch fehlenden Guanamine der übrigen, flüchtigen Fettsäuren darzustellen, ihre Krystallform zu bestimmen und abzubilden, sowie zu untersuchen, inwiefern diese einfache Methode zur Auffindung und Bestimmung flüchtiger Fettsäuren sich verwerthen lässt. Um die homologe Reihe dieser Basen zu vervollständigen, habe ich das Guanamin der Propionsäure und der Oenanthsäure dargestellt. Wie die Versuche mit der Caprylsäure und Caprinsäure ausfielen, darauf werde ich am Schluss dieser Arbeit zurückkommen.

Um das Propioguanamin in grösseren Quantitäten darzustellen, wurden 250 g Propionsäure (aus der Fabrik von Kahlbaum in Berlin) durch fractionirte Destillation gereinigt und nur die zwischen 140 bis 142° bei 710 mm Bst. siedende Fraction zur Darstellung der Base verwendet. Das propionsaure Salz, erhalten durch Zersetzen des reinen Guanidincarbonates mit Propionsäure, wurde mit einem Kolben auf dem Sandbade allmählich bis auf 220 bis 230° erhitzt, wobei eine reichliche Ammoniakentwickelung die Zersetzung des Salzes anzeigte. Nach einstündigem Erhitzen auf 230° wurde die schwach gelb gefärbte Schmelze mit heissem Wasser ausgezogen und von einem gleichzeitig gebildeten amorphen Rückstand heiss abfiltrirt. Aus dem Filtrate scheidet sich nach Zusatz von concentrirter Natronlauge die neue Base als weisser, krystallinischer Niederschlag ab. Nach Verlauf von mehreren Stunden wurde filtrirt, mit destillirtem, kaltem Wasser nachgewaschen und der erhaltene Niederschlag zwischen Fliesspapier getrocknet. Hierauf wurde die Base in wenig verdünnter Salzsäure gelöst und so das salzsaure Salz dargestellt. Letzteres wurde durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus Alkohol vollkommen rein erhalten.

Das salzsaure Propioguanamin enthält kein Krystallwasser. Es ergab das bei 110° getrocknete Salz 40.21 Proc. Stickstoff. Die Formel $C_5H_9N_5HCl$ verlangt 39.89 Proc.

Ein Theil des salzsauren Salzes wurde mit Natronlauge zersetzt und die freie Base durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser rein erhalten.

Die Elementaranalysen dieser Verbindung lieferten folgende Zahlen:

0.2565 g gaben 0.404 g CO_2 und 0.1551 g H_2O oder 42.95 Proc. C und 6.70 Proc. H.

Die erhaltenen Zahlen stimmen gut mit der Formel $C_5H_9N_5$ überein, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist:

	Gefunden:		Berechnet:
C	42.95 Proc.	C_5	43.19 Proc.
H	6.70 „	H_9	6.47 „
N	50.11 „	N_5	50.35 „

Das Propioguanamin krystallisirt wasserfrei, löst sich gut in heissem Wasser, leichter in Alkohol; aus der wässerigen Lösung wird es durch Zusatz von starker Natronlauge gefällt, nicht durch Ammoniak. Im Capillarröhrchen trocken erhitzt,

bräunt es sich gegen 300°, jedoch ohne zu schmelzen. Das Propioguanamin löst sich in Mineralsäuren leicht auf und bildet damit gut krystallisirende Salze, die sich sehr leicht in Wasser und Alkohol lösen. Das Propioguanamin, aus Natronlauge auskrystallisirt, erscheint unter dem Mikroskop als rundliche Körner, die den Hefepilzen ähnlich sind (Fig. 10). Aus Wasser umkrystallisirt, erhält man äusserst wohl ausgebildete Pyramiden von quadratischem Habitus (Fig. 11).

Zur Herstellung von Oenanthoguanamin unterwarf ich 100 g Oenanthsäure (aus der Fabrik von Kahlbaum in Berlin) der fractionirten Destillation. Zur Darstellung der Base verwendete man die zwischen 220 bis 221° bei 713 mm Bst. siedende Fraction. Die Menge des Productes von diesem Siedepunkt betrug etwa 72 g. Die so erhaltene Oenanthsäure ist eine farblose Flüssigkeit, siedet bei 220 bis 221° und erstarrt, in eine Kältemischung gebracht, krystallinisch.

Es wurden 50 g kohlensaures Guanidin mit Oenanthsäure neutralisirt, die Entwickelung der Kohlensäure erfolgt erst bei Dampfbadwärme. Analog dem Propioguanamin wurde das gebildete önanthsaure Guanidin eine Stunde lang auf 236° erhitzt. Während der Ammoniakentwickelung verflüchtigen sich Dämpfe, deren Geruch sehr an Zimmt erinnert.

Nachdem man eine Stunde lang auf 236° erhitzt hat, lässt man die Schmelze sich abkühlen und verdünnt hierauf dieselbe mit etwas destillirtem Wasser. Nach Zusatz von Natronlauge scheidet sich ein weisser Niederschlag ab, zugleich bildet sich eine ölige Schicht, die mittelst Scheidetrichter von der übrigen Flüssigkeit getrennt wird. In viel Wasser jedoch löst sich das ölige Product und beim Erkalten scheiden sich Krystalle ab, ganz analog denjenigen, die sich direct mit Lauge abscheiden lassen.

Das Oenanthoguanamin wird zweckmässiger aus Wasser als aus Alkohol umkrystallisirt. Die Elementaranalysen der wiederholt aus Wasser umkrystallisirten Substanz lieferten folgende Zahlen:

0.2861 g Substanz gaben 0.5825 g CO_2 und 0.2297 g H_2O oder 55.51 Proc. C und 8.92 Proc. H.

Die Stickstoffbestimmungen ergaben im Mittel 35.58 Proc. N. Die erhaltenen Zahlen stimmen mit der Formel $C_9H_{17}N_5$ vollkommen überein, was aus folgender Zusammenstellung ersichtlich ist.

	Gefunden:		Berechnet:
C	55.51 Proc.	C_9	55.39 Proc.
H	8.92 „	H_{17}	8.71 „
N	35.58 „	N_5	35.90 „

Das Oenanthoguanamin krystallisirt wasserfrei; in Wasser ist es nur wenig löslich, leicht in Alkohol. Aus der wässerigen Lösung wird es durch concentrirte Natronlauge abgeschieden. Aus 50 g Guanidincarbonat erhält man 4 bis 5 g der reinen Base. Im Capillarröhrchen trocken erhitzt, schmilzt dasselbe bei 130°. In Säuren ist es leicht löslich und bildet damit gut krystallisirende Salze; diese lösen sich leicht in Wasser und Alkohol. Das Oenanthoguanamin (aus Natronlauge oder aus Wasser umkrystallisirt) krystallisirt in rhombischen Tafeln und Stäbchen, welche oft zu federförmigen Aggregaten zusammentreten (s. Fig. 17 und 18).

Während aus den Guanidinsalzen der Fettsäuren, bis zu einem Gehalt von sieben Kohlenstoffatomen, als das Hauptproduct die zugehörigen Guanamine erhalten werden, ist dies bei den nächst höheren Fettsäuren, bei der Capryl- und der Caprinsäure, nicht mehr der Fall.

Trotzdem die reine, von Kahlbaum bezogene Caprylsäure als Guanidinsalz auf analoge Weise wie bei der Darstellung der anderen Guanamine erhitzt wurde, gelang es mir doch nicht, trotz wiederholter Versuche, wobei ich die Temperatur und die Dauer des Erhitzens variirte, das Guanamin zu erhalten. Das erhaltene Product, das nicht mehr basische Eigenschaften besass, hatte einen viel niedrigeren Stickstoff- und weit höheren Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt. Eine Aufklärung über die hier stattfindende Reaction erhielt ich, als ich das Guanamin der Caprinsäure $= C_{10}H_{20}O_2$ darstellen wollte.

30 g der reinen, bei 30° schmelzenden, von Trommsdorff bezogenen Caprinsäure wurden in wenig Alkohol gelöst und die alkoholische Lösung mit kohlensaurem Guanidin bis zur alkalischen Reaction neutralisirt. Das erhaltene Guanidinsalz wurde dann zuerst in einer Porcellanschale auf dem Wasserbade getrocknet und hierauf in einem offenen Kolben auf dem Sandbade erhitzt.

Die Temperatur der Schmelze betrug hier 230 bis 240°, wobei neben Ammoniak wieder jene eigenthümlichen, stark an Zimmtöl erinnernden Dämpfe auftraten. Nach etwa dreiviertelstündigem Erhitzen wurde erkalten gelassen, und die Schmelze mit viel Wasser ausgekocht; dabei zeigte sich, dass die Auszüge auffälliger Weise nicht alkalische, sondern saure Reaction hatten.

Von heissem Wasser wurde nur eine geringe Menge eines weissen, krystallinischen Körpers aufgenommen, der keine basischen Eigenschaften mehr hatte und dessen Menge zur Analyse nicht mehr ausreichte.

Die Hauptmasse des Reactionsproductes war nicht mehr in Wasser, wohl aber in Alkohol löslich. Dieses Product wurde zunächst aus Ligroin, hierauf aus Alkohol umkrystallisirt und analysirt. Die Elementaranalysen dieses Productes ergaben Zahlen, welche der Formel $C_9H_{19}NO$ entsprechen. Es ist dies die Formel des Pelargonsäureamids, das zuerst von Schalfejeff[1]) gelegentlich seiner Arbeit über das Rautenöl dargestellt worden ist.

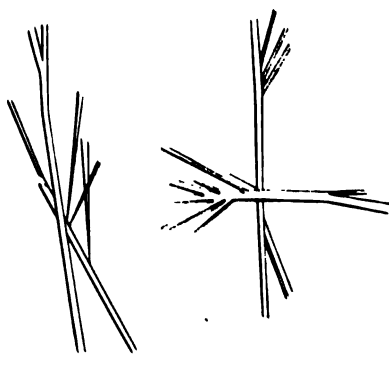
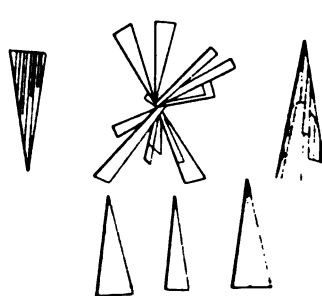
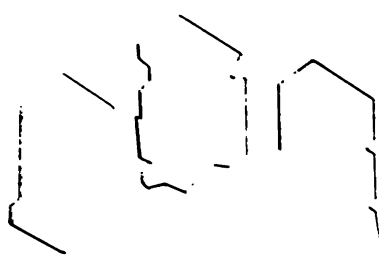
Schalfejeff giebt an, dass das Pelargonamid in dünnen, rectangulären Blättchen krystallisirt, die bei 92 bis 93° schmelzen. Das von mir aus caprinsaurem Guanidin erhaltene Product schmolz bei 93° und ergab bei der Elementaranalyse:

68.81 Proc. C, 12.15 Proc. H und 9.21 Proc. N. Die Formel $CH_3(CH_2)_7CONH_2$ verlangt $C_9 = 68.78$ Proc., $H_{19} = 12.10$ Proc., $N = 8.91$ Proc.

Es ist gewiss sehr auffällig, dass als Hauptproduct einer jedenfalls ziemlich complicirten Reaction aus dem caprinsauren Guanidin das Amid einer um einen Kohlenstoff ärmeren Säure entstanden ist, und es wird das Verhalten der Guanidinsalze höherer Fettsäuren beim trockenen Erhitzen im hiesigen Laboratorium näher untersucht. So viel ist sicher, dass dabei keine Guanamine mehr entstehen und die Anwendung des Guanidins zur Erkennung der Fettsäuren würde daher nur bei den

[1]) Ber. 6, 1252.

eigentlichen flüchtigen Fettsäuren bis zu sieben Kohlenstoffatomen, gerade wie sie bei der Gährung der Eiweissstoffe auftreten, möglich sein.

Obgleich nun jetzt die Guanamine der homologen Reihe von Ameisensäure bis zur Oenanthylsäure incl. dargestellt sind, so sind von den zahlreichen Isomeren nur die der beiden Buttersäuren bekannt. Voraussichtlich werden bei den 4 isomeren

Formoguanamin aus NaOH auskrystallisirt. Formoguanamin aus H_2O auskrystallisirt.

Valeriansäuren, 8 Capronsäuren und 17 Heptylsäuren die entsprechenden Guanamine, ähnlich wie bei den isomeren Buttersäuren durch ihre Krystallform, Löslichkeitsverhältnisse u. s. w. von einander verschieden sein. Es wäre daher wünschenswerth, dass diejenigen Chemiker, die bei ihren Arbeiten auf die isomeren Fettsäuren mit 5, 6 und 7 Kohlenstoffatomen stossen, auch die Guanamine dieser Säuren darstellen würden.

Acetoguanamin aus NaOH langsam auskrystallisirt. Acetoguanamin aus NaOH schnell auskrystallisirt. Acetoguanamin aus H_2O umkrystallisirt.

Ich habe auch die Krystallformen der bis jetzt bekannten Guanamine abgebildet und möchte zur Erläuterung derselben Folgendes bemerken.

Das Formoguanamin (Fig. 5) krystallisirt aus Natronlauge in dünnen, an den Enden zugespitzten, geraden oder schwach gekrümmten Nadeln, die an den Spitzen oft büschelig verzweigt sind.

Aus Wasser umkrystallisirt (Fig. 6) bildet es vierseitige, gestreifte Pyramiden, die zu sternförmigen Krystallgruppen in der Weise zusammentreten, dass die Spitzen der Pyramiden gegen ein gemeinsames Centrum gerichtet sind.

Das Acetoguanamin (Fig. 7), langsam aus Natronlauge krystallisirt, bildet sechsseitige, längliche Tafeln; die zwei längeren Seiten sind oft unregelmässig. Schnell aus Natronlauge krystallisirt, verlieren die Tafeln noch mehr an ihrer Form (Fig. 8). Aus Wasser umkrystallisirt, erhält man sehr schön ausgebildete, glänzende, dem Cholesterin ähnliche, rhombische Tafeln (Fig. 9).

Fig. 10. Fig. 11.

Propioguanamin aus NaOH auskrystallisirt. Propioguanamin aus H_2O umkrystallisirt.

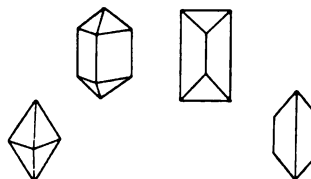



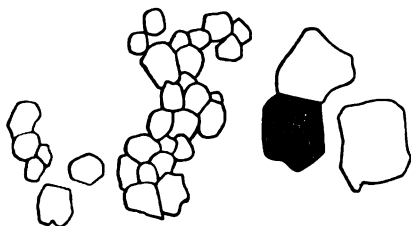
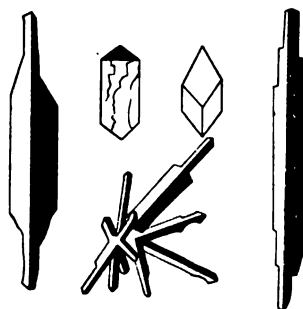
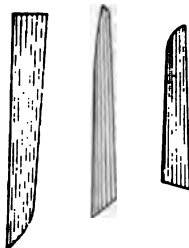
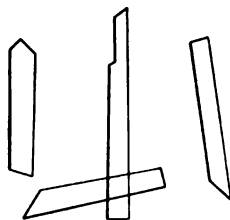
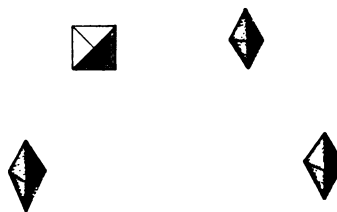
Fig. 12. Fig. 13.

Butyroguanamin aus NaOH auskrystallisirt. Isobutyroguanamin aus NaOH auskrystallisirt.

Fig. 14. Fig. 15. Fig. 16.

Valeroguanamin aus NaOH auskrystallisirt. Valeroguanamin aus H_2O umkrystallisirt. Caproguanamin aus NaOH auskrystallisirt.

Das Butyroguanamin krystallisirt beim langsamen Erkalten ohne Verdunsten der wässerigen Lösung auf dem Wasserbade in viereckigen Tafeln, deren Winkel rechte sind. Rasch aus Natronlauge oder heisser Lösung abgeschieden, erhält man es in kugeligen Krystallen oder in hemiëdrischen Gestalten (Sphenoiden) mit krummen Flächen (Fig. 12).

Das Isobutyroguanamin krystallisirt in spitzen Rhomboëdern, sehr nahe stehend dem Rhomboëder des 2 R' des Calcits, oder in Prismen mit beiden Rhomboëdern

zum Theil in reihenförmig gruppirten Aggregaten, sehr an ähnliche Aggregate beim Quarz erinnernd (Fig. 13).

Das Isovaleroguanamin aus Isopropylessigsäure, aus Wasser umkrystallisirt, bildet glänzende, weisse Nadeln des rhombischen Systems, die namentlich beim raschen Abkühlen radial oder längs der Hauptaxe zusammengewachsen erscheinen; aus Natronlauge krystallisirt, scheidet es sich in fein gestreiften, schmalen, gegen das Ende sich verjüngenden Nadeln ab (Fig. 14 und 15).

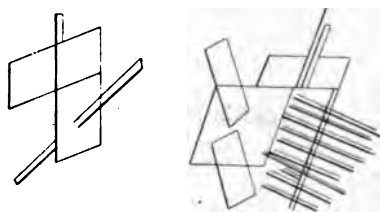
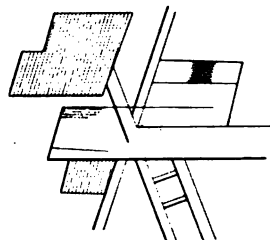
Fig. 17.

Oenanthoguanamin aus NaOH auskrystallisirt.

Fig. 18.

Oenanthoguanamin aus H_2O umkrystallisirt.

Das Caproguanamin (Fig. 16), sei es aus Wasser oder aus Natronlauge umkrystallisirt, besteht immer aus kleinen, glitzernden Krystallen, die unter dem Mikroskop als wohl ausgebildete, quadratische Pyramiden, zum Theil mit einer Basisfläche abgestumpft, erscheinen; oft bilden sie auch Zwillinge.

Ueber einige Oxyketone aus Fettsäuren und Phenolen

von

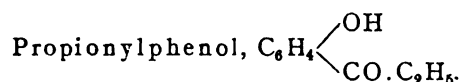
A. Goldzweig und **A. Kaiser.**

Journ. prakt. Chem. **43**, 86. — Inaugural-Dissertationen: „Ueber einige neue Oxyketone aus Propionsäure und Phenolen" von A. Goldzweig und „Ueber die Verbindungen einiger homologen einbasischen Fettsäuren mit α-Naphtol" von A. Kaiser. Bern im Jahre 1890.

Die glatte und elegante Synthese aromatischer Oxyketone durch Erhitzen von Säuren und Phenolen mit Chlorzink wurde beiläufig vor zehn Jahren von Nencki entdeckt und im Journ. f. prakt. Chem., Jahrg. 1881 und 1882, beschrieben. Veranlasst durch eine Publication W. H. Perkin's [1]) machte Prof. Nencki [2]) im vorjährigen Decemberhefte der Wiener Monatshefte für Chemie die Mittheilung, dass auf gleiche Weise wie aus Essigsäure auch aus Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure die entsprechenden Oxyketone erhalten werden. Diese Oxyketone erlangten auch eine

[1]) Journ. chem. Soc. **1**, 546 bis 549 (1889).

[2]) Monatshefte f. Chem. **10**, 906. — Dieser Band S. 125.

technische Bedeutung, da sie, falls sie mindestens zwei benachbarte Hydroxyle im aromatischen Kern enthalten, wie z. B. die aus Säuren und Pyrogallol erhaltenen Ketone, sich gebeizten Stoffen gegenüber wie Farbstoffe verhalten. Auf Veranlassung von Prof. Nencki haben wir die Darstellung und genauere Untersuchung der neuen Oxyketone übernommen und während wir damit beschäftigt waren, erhielten wir Kenntniss von den Patenten [1]) der badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen, in welchen auch mehrere der von uns dargestellten Oxyketone beschrieben waren. In Folgendem wollen wir die Resultate unserer Untersuchung mittheilen, wobei wir uns auf die Beschreibung der in den genannten Patentschriften nicht erwähnten Verbindungen beschränken.

Propionylphenol, $C_6H_4\left<\begin{array}{l}OH\\CO.C_2H_5\end{array}\right.$.

Zur Darstellung dieser Verbindung werden zwei Gewichtstheile Chlorzink in einem Gewichtstheil Propionsäure in der Wärme gelöst, der Flüssigkeit 1.5 Gewichtstheile Phenol zugesetzt und in einem offenen Kolben auf einem Drahtnetz erhitzt. Sobald die Flüssigkeit (bei 155°) zu sieden anfängt, wird die Flamme rasch entfernt, und der Kolben zur Vollendung der Reaction noch einige Zeit auf dem Drahtnetz stehen gelassen. Die hierbei entstandene blutroth gefärbte Schmelze wird nach dem Erkalten mit einem Ueberschuss von destillirtem Wasser versetzt und tüchtig durchgeschüttelt. In einigen Stunden verwandelt sich das sämmtliche im Kolben befindliche Reactionsproduct in eine dunkelroth gefärbte Krystallmasse, welche nach der Trennung von der Mutterlauge durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, leicht farblos erhalten werden kann.

Aus heissem Wasser umkrystallisirt, bildet das Propionylphenol farblose Nadeln oder kurze rhombische Prismen, die kein Krystallwasser enthalten und an der Luft allmählich eine strohgelbe Färbung annehmen. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 148°. In kaltem Wasser sind sie sehr schwer, in heissem Wasser viel leichter löslich. Im Mittel aus zwei Bestimmungen bedarf ein Theil der Substanz bei 15° 2896 Theile Wasser zur Lösung. Bei 100° wird ein Theil der Substanz schon von 30 Theilen Wasser gelöst. In Alkohol und Aether ist das Propionylphenol sehr leicht löslich. Durch Eisenchlorid werden die Lösungen nicht gefärbt. Ammoniakalische Silberlösung wird durch das Keton schon in der Kälte reducirt. Gegen Säuren und Alkalien ist die Verbindung ziemlich beständig, erst durch Schmelzen mit Kali wird sie zersetzt, wobei aber Spaltungsproducte, Paraoxybenzoësäure und Phenol, entstehen. 4.5 g des reinen Propionylphenols wurden mit der fünffachen Menge Aetzkali in einer Platinschale verrieben, mit Wasser angefeuchtet und geschmolzen. Aus der erhaltenen, in heissem Wasser löslichen Schmelze schied sich nach Uebersättigung derselben mit Salzsäure ein braunes Oel ab, welches zur näheren Untersuchung in Aether aufgenommen wurde. Der Aether wurde durch Destillation vom Extracte entfernt und der Rückstand zum Erkalten stehen gelassen. In wenigen Augenblicken darauf schieden sich Krystalle mit einem nach Phenol riechenden Oele aus, welches von

[1]) Ber. **23**, 43 u. 188. Ref.

den Krystallen getrennt und mit Wasserdampf überdestillirt wurde. Das Destillat zeigte, sowohl mit Eisenchlorid, als Bromwasser versetzt, die charakteristischen Reactionen auf Phenol. Die Krystalle lösten sich beim Behandeln mit heissem Wasser leicht darin auf; sie wurden daher aus heissem Wasser umkrystallisirt. Dieselben, unter dem Mikroskope betrachtet, zeigten kleine, durchsichtige Prismen. Ueber H_2SO_4 im Exsiccator getrocknet, trübten sie sich immer mehr und mehr und wurden zuletzt, das constante Gewicht erlangend, ganz matt und undurchsichtig. Diese Veränderung deutete auf einen Krystallwassergehalt hin, und ein nach zweimaligem Umkrystallisiren an der Luft getrocknetes Präparat ergab bei der Krystallwasserbestimmung folgende Zahlen:

0.2139 g der trockenen Substanz verloren, bei 110° getrocknet, 0.0249 g an Gewicht, entsprechend 11.4 Proc. Krystallwasser. Die Formel $C_7H_6O_3 + H_2O$ erfordert ebenfalls 11.4 Proc. Krystallwasser.

Die Elementaranalyse der genannten Krystalle ergab folgende Zahlen: 0.1890 g der bei 110° getrockneten Substanz lieferten bei der Verbrennung mit CuO: 0.4211 g CO_2 und 0.0772 g H_2O = 60.87 Proc. C und 4.35 Proc. H.

Die Formel der Oxybenzoësäure erfordert 60.90 Proc. C und 4.53 Proc. H.

Mit Eisenchlorid gaben die Krystalle keine Färbung. Der Schmelzpunkt derselben lag bei 210°.

Es unterlag demnach keinem Zweifel, dass die in erwähnter Weise erhaltene Substanz Paraoxybenzoësäure ist, welche mit einem Molekül Wasser krystallisirt und trocken bei 210° schmilzt. Phenol und Paraoxybenzoësäure waren die einzigen Spaltungsproducte des Propiophenols beim Schmelzen mit Aetzkali. Da die Oxybenzoësäure ebenfalls beim Schmelzen mit Alkalien in CO_2 und Phenol zerfällt, so müsste wenigstens ein Theil des erhaltenen Phenols aus der erst entstandenen Paraoxybenzoësäure herstammen. Aus der Zersetzung der Propiophenolverbindung durch Schmelzen mit Kali geht hervor, dass das Propionyl in die erwähnte Verbindung in die Parastellung eingetreten ist. Die erhaltene Substanz ist also Parapropionylphenol und mit der von Perkin [1]) aus Phenol und Propionylchlorid erhaltenen identisch.

Eine kalte, alkoholische Lösung des Propionylphenols, mit Bromwasser versetzt, giebt ein krystallinisches Substitutionsproduct, welches, aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, schwach gelbe Blättchen darstellt. Dieselben sind in Wasser sehr schwer, leicht aber in Alkohol und Aether löslich. Im Capillarröhrchen schmelzen sie bei 100°. Eisenchlorid fällt aus der alkoholischen Lösung derselben einen hellgelben Niederschlag, der auch beim Erwärmen unverändert bleibt. Essigsaures Blei giebt einen weissen Niederschlag. Chlorkalklösung bringt keine Färbung hervor. Die lufttrockenen Krystalle verlieren über SO_4H_2 getrocknet nichts mehr an Gewicht und eine Brombestimmung ergab mit der Formel eines Dibromids = $C_9H_8Br_2O_2$ übereinstimmende Zahlen.

0.2945 g der Substanz gaben 0.3580 g $AgBr$ = 51.71 Proc. Br. Die Formel $C_9O_8Br_2O_2$ verlangt 51.94 Proc. Br.

Rauchende Salpetersäure wirkt auf das Propionylphenol ein. Nach beendigter

---

[1]) Journ. chem. Soc. **1**, 546 bis 549 (1889).

Reaction wurde die entstandene Lösung mit etwa dem dreifachen Volumen Wasser versetzt, wobei nach kurzer Zeit das entstandene Nitroproduct sich krystallinisch abgeschieden hat. Aus heissem Wasser umkrystallisirt, bildet es gelb gefärbte, glänzende Krystalle, welche kein Krystallwasser enthalten, und bei der Elementaranalyse mit der Formel eines Dinitroproductes übereinstimmende Zahlen ergaben.

0.1502 g gaben 0.2465 g CO_2 und 0.0499 g H_2O oder 44.84 Proc. C und 3.66 Proc. H.

0.2125 g gaben 23.0 ccm N bei 14° und 710 mm Bst. = 12.14 Proc. N.

Die Formel $C_6H_2(NO_2)_2\langle{}^{OH}_{CO\,.\,C_2H_5} = C_9H_8O_6N_2$ erfordert 45.0 Proc. C, 3.33 Proc. H und 11.66 Proc. N.

Der Schmelzpunkt dieses Nitroproductes liegt bei 180°. In heissem Wasser, Alkohol, Aether und Alkalien ist es sehr leicht löslich. Mit Eisenchlorid giebt die Verbindung keine Färbung. Durch Chlorkalklösung, wie auch durch essigsaures Blei entsteht in der wässerigen Lösung ein orangegelber Niederschlag. Blaues Lackmuspapier wird durch die reine wässerige Lösung roth gefärbt.

Entsprechend seiner Ketonnatur giebt das Propionylphenol mit Phenylhydrazin ein Phenylhydrazon, das jedoch ziemlich unbeständig ist. Zu seiner Darstellung wird eine alkoholische Lösung des Ketons mit wenig Essigsäure angesäuert, mit einer äquivalenten Gewichtsmenge von Phenylhydrazin versetzt und auf dem Wasserbade eingedampft.

Die ziemlich eingeengte ölige Masse wird mit einem geringen Ueberschuss von Wasser behandelt und zum Erkalten stehen gelassen. Nach kurzer Zeit bilden sich intensiv gelb gefärbte Krystalle, welche, abfiltrirt und aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, hellgelbe, glänzende Blättchen darstellen. Der Schmelzpunkt des über SO_4H_2 getrockneten Körpers lag bei 80° und seine Elementaranalysen lieferten folgende Zahlen:

0.1825 g der Substanz gaben 0.500 g CO_2 und 0.1143 g H_2O = 74.6 Proc. C und 7.00 Proc. H.

0.2640 g gaben 27 ccm N bei 16° und 713 mm Bst. = 11.25 Proc. N.

Die Formel $C_6H_4\langle{}^{OH}_{C\,.\,C_2H_5}$ (C=N—NH—C_6H_5) $= C_{15}H_{16}N_2O$ erfordert 75.0 Proc. C, 6.6 Proc. H und 11.66 Proc. N.

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\ C\,.\,C_2H_5\\ \;\|\\ \;N\\ \;NH\\ \;C_6H_5\end{cases}$$

Wie schon erwähnt, ist diese Verbindung sehr unbeständig. Schon bei gewöhnlicher Temperatur wird sie an der Luft zersetzt, und man muss, um dieselbe unverändert zu erhalten, sogleich nach der Trennung der Krystalle von der Mutterlauge sie in einem gut geschlossenen Exsiccator über H_2SO_4 an einem möglichst kühlen Orte aufbewahren. In Alkohol, Aether und Benzol ist die Verbindung sehr leicht löslich. In Wasser ist sie fast unlöslich, wird darin allmählich, schon bei gewöhnlicher Temperatur, zersetzt. Ebenso verhält sie sich gegen wässerige Alkalien und

Mineralsäuren. Die alkoholische Lösung giebt mit Eisenchlorid einen gelblichbraunen Niederschlag, der beim Erwärmen ins Dunkelbraune übergeht. Durch Bleiacetat, ebenso wie durch $AgNO_3$, entstehen in alkoholischer Lösung weisse, flockige Niederschläge. Der Körper reducirt Fehling'sche Lösung schon in der Kälte, neutrale Silberlösung bei gelindem Erwärmen, ammoniakalische dagegen schon bei Zimmertemperatur.

Propionylresorcin, $C_6H_3(OH)_2CO . C_2H_5$.

Zur Darstellung dieser Verbindung werden zwei Gewichtstheile Chlorzink mit einem Gewichtstheil Propionsäure übergossen, und das Gemisch auf dem Sandbade erwärmt. Nachdem sämmtliches Chlorzink in der Propionsäure gelöst ist, wird die Flüssigkeit mit einem Gewichtstheil Resorcin versetzt, und das Ganze über freier Flamme so lange erhitzt, bis die Bildung zahlreicher kleiner Dampfbläschen den Beginn der Reaction anzeigt. Man entfernt sofort die Flamme, versetzt nach dem Erkalten mit einem Ueberschuss von Wasser, schüttelt damit tüchtig durch und lässt an einem kühlen Orte stehen. In kurzer Zeit verwandelt sich dann die gelbrothe Flüssigkeit in eine krystallinische Masse. Die abfiltrirten und ausgewaschenen Krystalle werden etwa zweimal unter Zusatz von Thierkohle aus heissem Wasser umkrystallisirt, und so das Propionylresorcin in Form schwach rosagelber, glänzender, feiner Nadeln erhalten, die lufttrocken über SO_4H_2 nichts mehr an Gewicht verlieren und bei der Elementaranalyse folgende Zahlen ergaben.

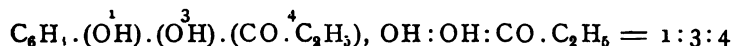
0.1660 g der Substanz gaben, mit CuO verbrannt, 0.3995 g CO_2 und 0.0971 g H_2O = 65.0 Proc. C und 6.40 Proc. H.

Die Formel $C_9H_{10}O_3$ erfordert 65.06 Proc. C und 6.02 Proc. H.

Im Capillarröhrchen schmilzt das Propionylresorcin bei 95°. In Alkohol, Aether, ebenso wie in Benzol ist es sehr leicht, in Wasser viel weniger löslich. In kaustischen Alkalien und in Ammoniak löst es sich ebenfalls leicht auf. Eine sogar sehr verdünnte Lösung der reinen Substanz wird durch Eisenchlorid dunkelroth gefärbt. Silbernitrat fällt aus der neutralen wässerigen Lösung derselben einen hell citronengelben Niederschlag. Chlorkalklösung bringt in der neutralen Lösung des Propionylresorcins keine Färbung hervor, bei Gegenwart von Ammoniak entsteht ein gelber, flockiger Niederschlag, der jedoch nach Zusatz von überschüssigem Ammoniak bald verschwindet. Bleiacetat fällt aus der wässerigen Lösung der Substanz einen rosarothen Niederschlag. Durch Bromwasser wird aus einer verdünnten, alkoholischen Lösung der Verbindung ein gelber Niederschlag gefällt. Die wässerige Lösung, mit Barytwasser versetzt, giebt einen gelblichweissen Niederschlag.

Um die relative Stellung des Propionyls zu den beiden Hydroxylen im Benzolkern zu ermitteln, haben wir das Propionylresorcin zu wiederholten Malen mit Kali geschmolzen, in der Erwartung, dass ähnlich wie das Propionylphenol Paraoxybenzoësäure, so das Propionylresorcin eine Resorcylsäure liefern wird. Wir haben jedoch als das einzige Product aus der Kalischmelze Resorcin isoliren können. Auch durch Oxydation des Ketons mit Chromsäure gelang es uns nicht, die gesuchte Resorcylsäure zu erhalten. Da jedoch das Propionylresorcin gleich wie das Acetylresorcin (das Resacetophenon von Nencki und Sieber) durch Eisenchlorid dunkelroth

gefärbt wird, so ist es bei sonst ganz gleicher Reaction wohl als sicher anzunehmen, dass das Propionyl am gleichen Ort wie das Acetyl im Benzolkern eingetreten ist. Nun haben H. v. Pechmann und C. Duisberg[1]) nachgewiesen, dass das Resacetophenon ein Orthopara-Dioxyacetophenon ist. Es ist daher wohl kaum zu bezweifeln, dass die relative Stellung der Seitenketten im Propionylresorcin der Formel:

$$C_6H_4.(\overset{1}{O}H).(\overset{3}{O}H).(CO.\overset{4}{C}_2H_5),\ OH:OH:CO.C_2H_5 = 1:3:4$$

entspricht.

Auf ganz gleiche Weise wie aus Propionylphenol wurde auch aus Propionylresorcin und Phenylhydrazin das entsprechende Phenylazon erhalten.

0.156 g dieser Substanz gaben 0.4003 g CO_2 und 0.0921 g H_2O = 69.92 Proc. C und 6.5 Proc. H.

0.2201 g der Substanz gaben 21.5 ccm N bei 16° und 718 mm Bst. über 20proc. Kalilauge = 10.72 Proc. N.

Die Formel $C_6H_3(OH)_2.C:(N_2H.C_6H_5).C_2H_5$ verlangt 70.31 Proc. C, 6.25 Proc. H und 10.93 Proc. N.

Der Schmelzpunkt des Resopropiophenylazons liegt bei 115°. Diese Verbindung ist ebenso wie das Propiophenolazon sehr unbeständig. Schon bei gewöhnlicher Temperatur erleiden die vollständig reinen und trockenen Krystalle an der Luft Veränderung, indem sie sich allmählich dunkelroth färben, dann sich bräunen und zuletzt unter völliger Zersetzung ganz schwarz werden. In Alkohol, Aether und Benzol ist die Substanz leicht löslich. In Wasser ist sie fast unlöslich und wird durch dasselbe sehr leicht zersetzt, ebenso verhält sie sich gegen Alkalien und Mineralsäuren. Durch Eisenchlorid wird die alkoholische Lösung derselben nicht gefärbt, ebenso wie durch Chlorkalklösung, und wird auch durch Bleiacetat (im Unterschied zu dem Propiophenolazon) nicht gefällt. Sie besitzt stark reducirende Eigenschaften, indem dieselbe aus einer Fehling'schen Kupferoxydlösung schon in der Kälte Kupferoxydul ausscheidet. Silbersalze werden sowohl in neutraler, als ammoniakalischer Lösung schon bei Zimmertemperatur von derselben reducirt.

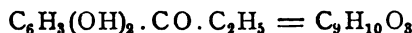
Propionylhydrochinon, $C_6H_3(OH)_2CO.C_2H_5$.

Diese Verbindung wurde erhalten, indem 1 Gewichtstheil Propionsäure, 2 Gewichtstheile Chlorzink und 1 Gewichtstheil Hydrochinon genau bis zum Sieden, das hier erst bei 190° eintrat, erhitzt wurden. Das erhaltene Reactionsproduct, das eine olivengrüne, gelatinöse Masse darstellte, wurde zur Entfernung des Chlorzinks mit Wasser ausgewaschen, von der Mutterlauge getrennt und auf einem Filter gesammelt. Schon nach einmaligem Umkrystallisiren, unter Zusatz von Thierkohle, konnte man ziemlich reine Krystalle erhalten. Zur vollständigen Reinigung wurden dieselben nochmals aus heissem Wasser umkrystallisirt, und die nunmehr erhaltenen Krystalle welche lange, sehr feine, silberweiss glänzende Nadeln darstellten, an der Luft getrocknet.

[1]) Ber. 16, 2121.

Die lufttrockenen Krystalle verloren im Exsiccator über H_2SO_4 nichts mehr an Gewicht und ihre Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

0.1784 g gaben bei der Verbrennung mit CuO 0.4238 g CO_2 und 0.1055 g H_2O = 64.80 Proc. C und 6.50 Proc. H. Die Verbindung

$$C_6H_3(OH)_2.CO.C_2H_5 = C_9H_{10}O_3$$

enthält 65.06 Proc. C und 6.02 Proc. H.

Der Schmelzpunkt des Propionylhydrochinons liegt bei 92°. In Alkohol, Aether, wie in wässerigen Alkalien ist es, ähnlich wie die beiden vorhergehenden Verbindungen, leicht löslich; nur wenig löslich in kaltem Wasser. Durch Eisenchlorid entsteht in der wässerigen Lösung der Substanz eine gelbrothe Trübung, welche auch beim Erhitzen nicht verschwindet. Durch Chlorkalklösung wird keine Färbung hervorgebracht. Bleiacetat fällt aus der wässerigen Lösung einen amorphen, weissen Niederschlag. Beim Behandeln der verdünnten alkoholischen Lösung der Substanz mit Bromwasser entsteht ein gelber, flockiger Niederschag. Kupfer- und Silberlösungen werden von ihr leicht reducirt. Von rauchender Salpetersäure wird dieses Keton unter heftiger Gasentwickelung gelöst und liefert nach Wasserzusatz eine dicke, ölige Masse, welche nach dem Erkalten zu einem grünlichgelben, krystallinischen Nitroproduct erstarrt. Genau in der gleichen Weise wie bei den zwei vorhergehenden Ketonen wurde auch hier mit Phenylhydrazin das entsprechende Phenylazon erhalten. Sein Schmelzpunkt liegt bei 100°. In Alkohol und Aether ist die Substanz leicht, in Wasser sehr schwer löslich. Durch Eisenchlorid wird die alkoholische Lösung dunkelroth gefärbt und wird beim Erhitzen schmutzigbraun. Chlorkalklösung bringt keine Färbung hervor. Durch Bleiacetat wird die alkoholische Lösung nicht gefällt. Alkalische Kupfer- und Silberlösungen werden schon in der Kälte reducirt.

Die Elementaranalysen der Substanz ergaben folgende Zahlen:

0.1522 g der Substanz gaben 0.3901 g CO_2 und 0.0898 g H_2O = 69.93 Proc. C und 6.57 Proc. H.

0.2178 g gaben 21 ccm N bei 16° und 713 mm Bst. über 20 proc. Kalilauge = 10.51 Proc. N.

Die Formel $C_{15}H_{16}N_2O_2$ verlangt 70.31 Proc. C, 6.2 Proc. H und 10.93 Proc. N.

Da im Hydrochinon die beiden Hydroxyle in Parastellung sich befinden, so ist bekanntlich nach dem Sechseckschema beim Ersetzen noch eines Wasserstoffes im Kern nur ein Substitutionsproduct möglich, weshalb auch das Verhalten des Propionylhydrochinons beim Schmelzen mit Kali nicht weiter untersucht wurde.

Bemerkenswerther Weise gelang es nicht, aus Propionsäure und Brenzcatechin gleich wie aus Essigsäure das entsprechende Keton darzustellen. Man wäre geneigt, die Erklärung hierfür in der Orthostellung der beiden Hydroxyle zu suchen. Indessen ist das Pyrogallol, wo die drei Hydroxyle in der Stellung 1:2:3 sich befinden, gerade durch die Leichtigkeit, mit welcher es mit den verschiedensten fetten und aromatischen Säuren beim Erhitzen mit Chlorzink die entsprechenden Oxyketone liefert, ausgezeichnet. In der Naphtalinreihe ist es wiederum das α-Naphtol, das beim Erhitzen mit Säuren und Chlorzink sehr leicht Oxyketone bildet, während aus β-Naphtol und α-Dioxynaphtalin wir nach der Methode von Nencki und Sieber

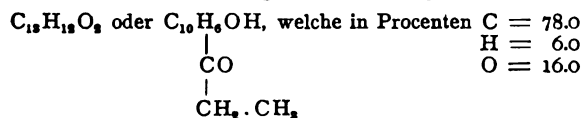
trotz mehrfacher Variationen der Versuchsbedingungen keine Ketone erhalten konnten. In Folgendem wollen wir noch einige Ketone des α-Naphtols und deren Derivate beschreiben.

Bei seinen Versuchen, α-Naphtol in essigsaurer Lösung zu sulfoniren, fand O. N. Witt[1]) vor Kurzem neben der gesuchten Sulfosäure einen in Nadeln krystallisirenden, blassgrünlich gefärbten, von α-Naphtol verschiedenen Körper, der sich bei genauerer Untersuchung als das α-Oxynaphtylmethylketon oder α-Acetylnaphtol herausstellte. Durch Erhitzen gleicher Theile α-Naphtol, Eisessig und Chlorzink zum Sieden hat Witt ebenfalls das Acetonaphtol erhalten. Die Ausbeute betrug indessen kaum 30 Proc. des angewandten Naphtols.

Zur Darstellung des α-Oxynaphtyläthylketons oder Propionyl-α-Naphtols wurden 75 g Propionsäure und 100 g Chlorzink auf dem Sandbade bis zur vollständigen Lösung des Chlorzinks erhitzt und darauf 145 g α-Naphtol hinzugegeben. Das Gemisch schwärzt sich sofort unter gänzlicher Lösung des Naphtols. Die Reaction beginnt bei etwa 166°. Man erwärmt noch einige Minuten, bis die Temperatur auf etwa 173° gestiegen ist. Aus der harzigen, braunschwarzen Schmelze wird das Keton, nachdem dieselbe mit Wasser behandelt worden ist, mit Aether extrahirt. Durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Aether oder Alkohol und Entfärben mit Thierkohle wird das gesuchte Product in blassgelben Krystallblättchen erhalten, die bei 81° schmelzen.

0.4008 g gaben bei der Verbrennung mit CuO 1.1438 g CO_2 und 0.2196 g H_2O = 77.85 Proc. C und 6.08 Proc. H.

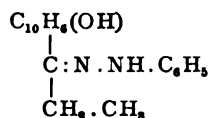
Diese Zahlen stimmen mit denjenigen der vorausgesetzten Formel:

$C_{13}H_{12}O_2$ oder $C_{10}H_6OH$, welche in Procenten C = 78.0
  | H = 6.0
 CO O = 16.0
  |
 $CH_2.CH_3$

erfordert, überein.

Die Krystalle lösen sich mit orangegelber Farbe in H_2SO_4 und werden daraus durch Wasser als milchige Trübung wieder gefällt. In Alkalien lösen sie sich mit gelbbrauner Farbe, und es scheiden sich aus dieser Lösung nach längerem Stehen die entsprechenden Alkalisalze in grossen gelbbraunen Krystallschuppen ab. In heissem Alkohol und in Aether löst sich das Keton leicht, weniger leicht in kaltem Alkohol. Die alkoholische Lösung wird auf Zusatz von Eisenchlorid violett bis braunschwarz.

Zur Darstellung der Verbindung mit Phenylhydrazin wurden äquivalente Mengen des Ketons und Phenylhydrazins beide in alkoholischer Lösung mit etwas Essigsäure versetzt und die Mischung drei Stunden lang auf dem Wasserbade am Rückflusskühler erwärmt. Nach dem Erkalten wurde die Essigsäure durch Natronlauge beinahe neutralisirt, und die Lösung längere Zeit an einem kühlen Orte stehen gelassen. Die Phenylazonverbindung scheidet sich in Form von schön citronengelben Krystallen ab. Sie sind luftbeständig und schmelzen bei 128°. Sie lösen sich mit gelber Farbe in Alkohol und Aether, schwer in heissem und fast gar nicht in kaltem Wasser.

Eine Stickstoffbestimmung ergab mit der Formel:

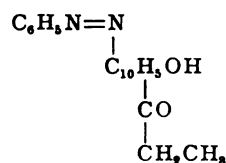
$$\begin{array}{l} C_{10}H_6(OH) \\ | \\ C:N.NH.C_6H_5 \\ | \\ CH_2.CH_3 \end{array}$$

übereinstimmende Zahlen. Gefunden 9.3 Proc. N. Berechnet 9.65 Proc. N.

Ein schön krystallisirendes Product wurde durch Einwirkung von Diazobenzolchlorid auf das Propionyl-α-Naphtol erhalten.

In eine alkalische Lösung des Ketons wurde eine frisch bereitete 9 proc. Lösung des Diazobenzolchlorids in äquivalentem Verhältnisse unter Kühlung gegossen, wobei die Temperatur der Mischung nicht 4° überstieg. Die Flüssigkeit färbt sich prachtvoll roth und nach einigem Stehen an einem kühlen Ort krystallisirt das Propionyl-α-naphtolazobenzol in gelbrothen, ziemlich harten Krusten aus. Aus Aether umkrystallisirt, schmolzen sie im Capillarröhrchen bei 110° und verpufften nicht beim Erhitzen. Sie lösen sich mit gelbrother Farbe in Alkohol, Aether und Alkalien. Concentrirte Schwefelsäure löst sie mit prächtig violetter Farbe auf. Die Lösung entfärbt sich jedoch auf Zusatz von Wasser. In starker Salzsäure lösen sie sich nur beim Erwärmen und zwar mit schön kirschrother Farbe.

0.2011 g der über SO_4H_2 getrockneten Substanz gaben 17.2 ccm N bei 15° und 716 mm Bst. = 9.43 Proc. N.

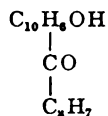
Die Formel:

$$\begin{array}{l} C_6H_5N{=}N \\ \qquad\quad | \\ \qquad C_{10}H_5OH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad CO \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad CH_2CH_3 \end{array}$$

verlangt 9.21 Proc. N.

Auf ganz gleiche Weise wurde aus normaler Buttersäure und α-Naphtol das Butyrylnaphtol, oder α-Oxynaphtylpropylketon dargestellt. Dieses Keton ist in heissem Wasser viel leichter löslich und kann sogar daraus umkrystallisirt werden. Aus Aether umkrystallisirt, erhält man es in Form von feinen, grauen, seidenartig glänzenden Nadeln von angenehmem, aromatischem Geruch. Schmelzpunkt 78°.

0.3329 g der aus Aether umkrystallisirten Substanz gaben 0.9523 g CO_2 und 0.198 g H_2O = 78.02 Proc. C und 6.61 Proc. H.

Die Formel:

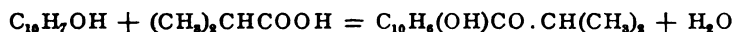
$$\begin{array}{l} C_{10}H_6OH \\ | \\ CO \\ | \\ C_3H_7 \end{array}$$

verlangt 78.5 Proc. C und 6.54 Proc. H.

Auch dieses Keton giebt mit Phenylhydrazin resp. Diazobenzolchlorid gut krystallisirende, den aus Propionyl-α-Naphtol erhaltenen analog zusammengesetzte Producte.

Lässt man statt Buttersäure Isobuttersäure auf α-Naphtol einwirken, so fängt das Gemisch bei 140° an zu sieden, und die Temperatur steigt, auch nach Wegnahme

der Flamme, rasch auf über 170°. Erhitzt man die Schmelze höher als bis auf 175 bis 180°, so verharzt sie vollständig zu einer schwarzbraunen Masse, die nun ausschliesslich aus amorphen Condensationsproducten besteht, welche nicht mehr krystallinisch und in Aether unlöslich sind.

Bei einer 170° nicht übersteigenden Temperatur erhält man eine günstige Ausbeute an Keton, welches sich nach dem chemischen Vorgang:

$$C_{10}H_7OH + (CH_3)_2CHCOOH = C_{10}H_6(OH)CO.CH(CH_3)_2 + H_2O$$

gebildet hat und das mit Aether und Alkohol ausgezogen und gereinigt, blassgelbliche, aromatisch riechende, luftbeständige Krystalle darstellt, deren Schmelzpunkt bei 79° liegt.

0.233 g dieses Ketons gaben 0.6668 g CO_2 und 0.143 g H_2O = 78.06 Proc. C und 6.82 Proc. H. Die obige Formel verlangt 78.5 Proc. C und 6.54 Proc. H.

Ueber eine neue Bildungsweise aromatischer Carbonsäuren

von

H. Frey und **M. Horowitz.**

Journ. prakt. Chem. 43, 113. — Inaugural-Dissertationen: „Ueber eine neue Synthese der aromatischen Carbonsäuren“ von H. Frey und „Ueber eine neue Bildungsweise der Xylylsäuren und der Dimethylacetophenone“ von M. Horowitz. Bern im Jahre 1890.

Bei der Leichtigkeit, mit welcher aus Säuren und Phenolen beim Erhitzen mit Chlorzink Oxyketone entstehen, lag der Gedanke nahe, die gleiche Reaction auch auf aromatische Kohlenwasserstoffe anzuwenden, zumal schon früher A. Michaelis[1]) nach der Methode von Friedel und Crafts durch Kochen von Essigsäureanhydrid und Toluol mit Chloraluminium das Tolylmethylketon erhalten hat.

Eisessig, mit Chlorzink und Toluol am Rückflusskühler im offenen Kolben erhitzt, wirkt auch bei längerem Kochen auf den Kohlenwasserstoff nicht ein. Es wurden deshalb 20 g Toluol und 20 g Essigsäure mit 30 g Chlorzink im zugeschmolzenen Rohre 10 bis 15 Stunden lang auf 180 bis 200° erhitzt. Bei dieser Temperatur trat nach und nach eine Reaction ein, unter Bildung eines schwärzlichen, schmierigen Productes. Der Process wurde für vollendet gehalten, als sich die ursprünglich getrennten klaren Flüssigkeiten vollständig in diese dickflüssige Masse verwandelt hatten. Beim Oeffnen der Röhre entwich unter starkem Druck Salzsäure. Der ganze Inhalt der Röhre wurde mit Wasser ausgespült, wodurch das Chlorzink und die Essigsäure in Lösung gingen, während ein leichteres Harz von angenehmem, an Acetophenon erinnerndem Geruch darauf schwamm. Das Harz wurde mit verdünnter Natronlauge im Dampfstrome destillirt. Mit den Wasserdämpfen ging ausser

[1]) Ber. 15, 185.

Toluol ein auf dem Wasser schwimmendes, angenehm riechendes Oel über, das, wie die spätere Untersuchung zeigte, das gesuchte Tolylmethylketon war. Der alkalische Retortenrückstand wurde filtrirt und mit Salzsäure angesäuert, wobei eine in weissen Nadeln krystallisirende Säure sich abschied. Die Menge der erhaltenen Krystalle war aber zu gering, um eine eingehende Verfolgung der Reaction zu ermöglichen. Mit Zinnchlorid in gleicher Weise angestellte Versuche ergaben noch schlechtere Ausbeute.

Man musste deshalb danach trachten, die Reaction schon bei niedrigerer Temperatur ohne Druck einzuleiten. Es ist uns auch gelungen, unseren Zweck zu erreichen, nachdem wir auf Vorschlag von Prof. Nencki als wasserentziehendes Mittel nicht Chlorzink allein, sondern Chlorzink und Phosphoroxychlorid gleichzeitig angewandt haben. Es werden dabei nicht allein aus dem Kohlenwasserstoff und der Fettsäure die entsprechenden Ketone gebildet, sondern es entstehen in Folge secundärer Zersetzung aromatische Carbonsäuren, und es dürfte in manchen Fällen diese neue Bildungsweise der letzteren von praktischer Bedeutung sein.

Wir wollen zunächst den Verlauf der Reaction und die dabei auftretenden Producte beschreiben, es wird dann leicht sein, den dabei stattfindenden chemischen Process zu verstehen.

Wir beginnen mit der Reaction zwischen Essigsäure und Toluol, wobei ausser Tolylmethylketon und einem harzigen Körper hauptsächlich Paratoluylsäure entsteht

In einem gut getrockneten Kolben, welcher mit Rückflusskühler versehen ist werden 2 Theile Eisessig, 2 Theile gekörntes Chlorzink und 1 Theil Toluol unter häufigem Umschütteln bei 105 bis 110° auf dem Paraffinbade gekocht. Dadurch geht das Chlorzink nach und nach vollständig in Lösung, und es bilden sich zwei scharf getrennte Schichten. Ist dies erreicht, so wird durch den Kühler in kleinen Portionen ein Theil Phosphoroxychlorid eingetragen. Dieses muss mit Vorsicht geschehen, weil die Einwirkung von $POCl_3$ leicht zu heftig werden kann. Deshalb ist es nothwendig, vor dem Nachgiessen öfters tüchtig umzuschütteln und während desselben den Kolben aus dem Paraffinbade herauszuheben. Gleich die ersten Antheile von $POCl_3$ bewirken eine lebhafte Entwickelung von Chlorwasserstoffsäure, welche bis zum Ende der Reaction anhält und durch ihre jeweilige Quantität ein Kriterium für den mehr oder weniger schnellen Verlauf der Einwirkung abgiebt. Sobald alles Phosphoroxychlorid hinzugefügt ist, beginnt der Kolbeninhalt, der bis zu diesem Moment klar und farblos bleibt, gelb zu werden, und zwar zuerst die untere der beiden Schichten. Man regulirt nun den Brenner so, dass die Flüssigkeit fortwährend in schwachem Kochen erhalten wird, was einer continuirlichen Temperaturerhöhung von 115 bis 120° entspricht. Je nach der Menge der verwendeten Substanzen, 30 bis 50 g Toluol, dauert diese letzte Phase $^1/_2$ bis 1 Stunde. Während dieser Zeit vermischen sich die zwei ursprünglichen Schichten, und die Farbe der dickflüssig werdenden Masse wird zunächst bräunlich, dann dunkelgrün und zuletzt tief grünlich schwarz. Wenn diese Farbennuance auftritt, so geht die Reaction ihrem Ende entgegen. Dasselbe ist erreicht, wenn statt der einzelnen grossen Chlorwasserstoffblasen, die bis dahin fortwährend aufsteigen, auf einmal eine Menge kleiner Bläschen, oft explosionsartig, im Kolben entstehen, die zwar noch immer Salzsäure

enthalten, aber eine weitergehende Umsetzung der Körper anzeigen, was aus der reichlicheren Verharzung und der geringeren Ausbeute ersichtlich ist. Sobald diese Erscheinung sich zeigt, entfernt man den Kolben sofort aus dem Paraffinbade und lässt am Kühler erkalten. Die völlig abgekühlte Masse wird dann mit viel Wasser versetzt, und das hierdurch abgeschiedene Harz durch Scheidetrichter von der wässerigen Lösung, welche phosphorige Säure, Salzsäure und Chlorzink enthält, getrennt und mit 5 proc. Natronlauge ausgekocht. Dadurch wird die gebildete Paratoluylsäure als Natronsalz aus dem Harze ausgezogen, während letzteres zugleich eine härtere Consistenz annimmt. Die Menge desselben blieb auch bei der sorgfältigsten Leitung des Processes immer ziemlich beträchtlich, ja es scheint sogar, dass die Verharzung zur Bildung der Säure unerlässlich ist. Alle Versuche einer weiteren Verarbeitung dieses Nebenproductes blieben ohne Erfolg, da weder mit H_2SO_4, HNO_3 u. s. w. noch mit Alkohol, Aether, Benzol u. s. w. ein krystallinischer Körper erhalten werden konnte. Die mit $NaOH$ gewonnene gelbliche Lösung wird filtrirt und mit concentrirter Salzsäure versetzt, wodurch die Paratoluylsäure als weisses Pulver ausfällt. Von Beimengungen kann dieselbe am besten gereinigt werden durch nochmaliges Lösen in $NaOH$ oder Na_2CO_3 und Fällen mit Salzsäure.

Die oben beschriebene Gewinnungsweise der Paratoluylsäure ist am ausgiebigsten, wenn etwa 80 g Chlorzink, 40 g Toluol und 40 g Phosphoroxychlorid zur Verwendung kommen. Bei diesem Verhältniss kann bei vorsichtiger Leitung des Processes eine Ausbeute an Säure von 30 bis 35 Proc. des angewandten Toluols erhalten werden. Versuche in grösserem Maassstabe hatten immer relativ geringere Ausbeute an Säure zur Folge.

Die so erhaltene, mit Salzsäure gefällte Paratoluylsäure ist noch nicht absolut rein und ergaben die Elementaranalysen einen um etwa $^1/_2$ Proc. zu niedrigen Kohlenstoffgehalt. Zur völligen Reinigung wurde ein grösseres Quantum der Säure sublimirt, wobei sich dieselbe in feinen, schneeweissen Nadeln ansetzte, die bei der Verbrennung mit der Formel $C_8H_8O_2$ gut stimmende Zahlen ergaben.

0.2499 g der Substanz gaben 0.6473 g CO_2 und 0.1335 g H_2O = 70.66 Proc. C und 5.93 Proc. H. Die Formel $C_8H_8O_2$ verlangt 70.59 Proc. C und 5.88 Proc. H.

Der Schmelzpunkt lag bei 176°. Durch Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung wurde die Säure in Terephtalsäure übergeführt.

Das zuerst von Brückner[1]) erhaltene Dinitroproduct wurde ebenfalls dargestellt, indem man einen Theil der Toluylsäure in einer Mischung von 20 Theilen Schwefelsäure und 10 Theilen reiner concentrirter Salpetersäure in der Wärme löste. Beim Erkalten krystallisirte die Dinitrosäure aus. Die erhaltenen Krystallblättchen wurden mit Wasser gut ausgewaschen und über SO_4H_2 getrocknet.

0.2119 g der Substanz lieferten 23.8 ccm N bei 16° und 710 mm Bst. = 12.15 Proc. N; die Formel $C_6H_2(NO_2)_2 . CH_3 . CO_2H$ verlangt 12.39 Proc. N.

Der Schmelzpunkt der Krystalle lag bei 158°. Die Dinitrosäure Brückner's schmolz bei 157 bis 158°.

Bei der Nitrirung tritt ein eigenthümlicher, sehr an Moschus erinnernder Geruch

[1]) Ber. 8, 1678.

auf, derselbe rührt aber offenbar nur von verunreinigenden Nebenproducten des zu diesem Zwecke einfach durch Fällung mit Chlorwasserstoff gewonnenen Materials her; denn die sublimirte Paratoluylsäure, sowie die später zu erwähnende aus dem Tolylmethylketon gewonnene, zeigten bei der Nitrirung keinerlei Geruch. Auch Brückner hat bei seiner aus Camphercymol gewonnenen Toluylsäure nichts derartiges bemerkt.

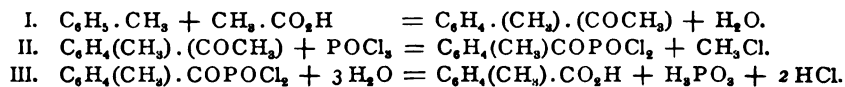
Wiederholte Versuche haben uns gezeigt, dass, je grösser die Ausbeute an Säure, um so geringer dieselbe an Keton ist. Um das letztere in grösseren Mengen zu erhalten, ist es nur nöthig, das Erhitzen abzukürzen, etwa 10 bis 15 Minuten nach dem Dunkelgrünwerden des Kolbeninhaltes, trotz lebhaftester Chlorwasserstoffentwickelung, die Reaction zu unterbrechen. Dann wird mit Wasserdämpfen das Keton überdestillirt, das Destillat mit Soda deutlich alkalisch gemacht, mit Aether gut durchgeschüttelt, durch Scheidetrichter getrennt und der Aether abdestillirt. Wird nun der Rückstand der fractionirten Destillation unterworfen, so geht zunächst das unveränderte Toluol über. Das zwischen 190 bis 218° besonders aufgefangene Product ergab nach wiederholtem Fractioniren ein constant bei 216 bis 217° siedendes Oel, was mit der Angabe von Michaelis, 217° für das Methyltolylketon, übereinstimmt. Zur weiteren Identificirung wurde das Dibromid nach der Vorschrift von Michaelis dargestellt, mit dem Unterschiede jedoch, dass man das Bromproduct nicht in Natronlauge, sondern einfach in Wasser brachte, wodurch nach einigen Tagen die ganze Masse zu einem Krystallbrei erstarrte. Die durch Umkrystallisiren aus heissem 60 proc. Alkohol erhaltenen Krystalle schmolzen bei 99°, die von Michaelis aus concentrirtem Alkohol erhaltenen Schüppchen bei 100°.

0.2047 g der Substanz gaben 0.2612 g AgBr = 54.35 Proc. Br. Die Formel $C_9H_8Br_2O$ verlangt 54.79 Proc. Br.

Das gleichzeitige Auftreten des Ketons und der Paratoluylsäure und zwar in der Weise, dass mit der grösseren Ausbeute an Säure bei längerem Erhitzen die Menge des erhaltenen Ketons sich verminderte, zeigte deutlich, dass die Bildung der Säure auf Kosten des Ketons geschieht. Um hierüber Aufklärung zu erlangen, wurden in einem Versuche die bei der Reaction auftretenden Gase aufgefangen. Es geschah dies in einem Eudiometer, welches in viel Wasser stand und durch eine Leitung mit Quecksilberverschluss mit dem Kühlerende verbunden war. Die in grosser Menge sich bildende Salzsäure löste sich vollständig in Wasser auf; daneben aber sammelte sich im Eudiometer, namentlich während der letzten Phase des Processes, ein farbloses Gas an. Dasselbe brannte mit grüngesäumter Flamme und erwies sich daher als Chlormethyl, CH_3Cl. Gestützt auf diesen Nachweis, kann man wohl behaupten, dass sich in erster Phase, unter der Einwirkung des Chlorzinks und des Phosphoroxychlorids, aus Essigsäure und Toluol das Tolylmethylketon bildet. Durch weitere Einwirkung des Phosphoroxychlorids entsteht unter Abspaltung von Chlormethyl eine Verbindung des Ketons mit dem Phosphoroxychlorid, die dann sofort beim Eingiessen in Wasser in Toluylsäure, phosphorige Säure und Salzsäure zerfällt. Die drei folgenden Gleichungen veranschaulichen die einzelnen Phasen der Reaction:

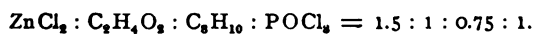
I. $C_6H_5.CH_3 + CH_3.CO_2H = C_6H_4.(CH_3).(COCH_3) + H_2O.$

II. $C_6H_4(CH_3).(COCH_3) + POCl_3 = C_6H_4(CH_3)COPOCl_2 + CH_3Cl.$

III. $C_6H_4(CH_3).COPOCl_2 + 3H_2O = C_6H_4(CH_3).CO_2H + H_3PO_3 + 2HCl.$

Da, wie die Gleichung zeigt, die Paratoluylsäure unmittelbar aus dem Keton entsteht, so muss auch das Acetyl in dem Tolylmethylketon relativ zum Methyl in der Parastellung sich befinden. Dieses zuerst von Michaelis und jetzt von uns erhaltene Keton wäre also als das Paramethyltolylketon zu bezeichnen.

Es war nun die nächste Aufgabe, einerseits die Richtigkeit unserer Auffassung, andererseits die Allgemeinheit der Reaction durch Anwendung homologer Fettsäuren und Kohlenwasserstoffe zu prüfen. Zunächst hat der Versuch Folgendes gezeigt. Wenn man statt Essigsäure Propionsäuse verwendet und im Uebrigen das Experiment gleich ausführt, so entsteht ebenfalls ausser Harz ein Oel von eigenthümlichem, dem Methyltolylketon ähnlichen Geruch, offenbar Aethyltolylketon, und aus der mit Natronlauge alkalisirten, filtrirten und mit Salzsäure gefällten Lösung wurde Paratoluylsäure vom Schmelzpunkt 167° erhalten. Sowohl an Keton wie an Säure ist die Ausbeute gering, weil die Reaction viel heftiger ist und viel Harz entsteht. Eingehender wurde die Reaction mit Essigsäure und den drei isomeren Xylolen studirt, wo die Ausbeute an den respectiven Ketonen und Säuren eine verhältnissmässig günstige war. Von den sechs möglichen isomeren Xylylsäuren sind bis jetzt fünf bekannt, und es war von Interesse zu sehen, ob aus Essigsäure und Orthoxylol die sechste von der Stellung $COOH : CH_3 : CH_3 = 1 : 2 : 3$ mittelst der neuen Reaction nicht zu erhalten sei.

Wir begannen unsere Versuche mit reinem m-Xylol (von Kahlbaum in Berlin bezogen) und fanden, dass behufs Erzielung einer möglichst guten Ausbeute es rathsam ist, die Stoffe in beiläufig folgendem Gewichtsverhältniss einwirken zu lassen:

$$ZnCl_2 : C_2H_4O_2 : C_8H_{10} : POCl_3 = 1.5 : 1 : 0.75 : 1.$$

Das Kochen mit $POCl_3$ soll auch nicht zu lange dauern; bei Verarbeitung von 30 g Xylol wurde der Process nach etwa einer Stunde unterbrochen, obwohl die Salzsäureentwickelung noch recht lebhaft vor sich ging.

Grössere Mengen Xylol auf einmal zu nehmen, ist nicht vortheilhaft, bei Verarbeitung von mehr als 50 g war die Ausbeute stets schlecht.

Was die Temperatur betrifft, bei welcher der Process stattfindet, so überschreitet sie nicht 125° im Innern des Kolbens.

Die Ausbeute an Xylylsäure erreicht gut 10 Proc. des verarbeiteten Xylols.

Um die Xylylsäure aus der Schmelze zu erhalten, wird sie nach dem Erkalten mit Wasser versetzt und durch Scheidetrichter getrennt; es sind nämlich drei Partien zu unterscheiden:

1. eine harzige, sehr dickflüssige Masse;
2. Xylol, das einen Theil des Harzes gelöst enthält;
3. die wässerige Lösung des Chlorzinks und der Mineralsäuren.

Das Harz wird mit verdünnter Natronlauge heiss ausgezogen, und dann aus dem Filtrate die Xylylsäure durch Salzsäure als krystallinischer, gelblich-weisser Niederschlag gefällt. Auch das im Kohlenwasserstoff gelöste Harz wird nach Verjagen des ersteren auf gleiche Weise behandelt.

Die erhaltene Xylylsäure wurde mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction gewaschen, dann in verdünnter Soda gelöst, mit Salzsäure gefällt und schliesslich aus Alkohol mehrmals umkrystallisirt.

Die aus reinem m-Xylol erhaltene Säure ist die Orthoparaxylylsäure, $CO_2H : CH_3 : CH_3 = 1:2:4$. Sie schmolz bei 122°. Den gleichen Schmelzpunkt fanden auch Kekulé und E. Hepp[1]), während O. Jacobsen[2]), Ador und Meier[3]), E. Kreysler[4]), W. Birukoff[5]) 126° als Schmelzpunkt der Säure angeben.

Die Analyse unseres Präparates ergab folgende Zahlen:

0.1947 g der Substanz gaben 0.5119 g CO_2 und 0.121 g H_2O = 71.7 Proc. C und 6.91 Proc. H.

Die Formel: $C_6H_3(CH_3)_2.CO_2H$ verlangt 72.0 Proc. C und 6.66 Proc. H.

In ein Gemisch von 15 g Salpetersäure (specifisches Gewicht 1.4) und 30 g concentrirter Schwefelsäure wurden 1.5 g der Orthoparaxylylsäure eingetragen und auf dem Wasserbade erwärmt. Nach erfolgter Lösung liess man erkalten und filtrirte die dabei ausgeschiedenen Krystalle auf einem mit Glaspfropfen lose verstopften Glastrichter ab. Sie wurden mit Wasser ausgewaschen, auf poröser Thonplatte getrocknet und aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Die Elementaranalyse ergab, dass das Product eine Dinitroxylylsäure war vom Schmelzpunkt 197°.

0.2007 g der Substanz gaben 0.328 g CO_2 und 0.0666 g H_2O = 44.57 Proc. C und 3.69 Proc. H.

0.2171 g gaben 22.8 ccm N bei 707 mm Bst. und 15° = 11.88 Proc. N.

Die Formel: $C_6H(NO_2)_2(CH_3)_2\ CO_2H$ verlangt 45.0 Proc. C, 3.33 Proc. H und 11.67 Proc. N.

Will man das neben der Xylylsäure gebildete Dimethylacetophenon gewinnen, so ist es rathsam, wenn es sich speciell um eine gute Ausbeute an Keton handelt, weniger $POCl_3$ zu nehmen (etwa $C_2H_4O_2 : POCl_3 = 3:2$) und 1 bis 2 Minuten nach Dunkelwerden der Flüssigkeit die Reaction zu unterbrechen. Das im Dampfstrome übergetriebene Keton und unveränderte Xylol werden aus dem Destillate mit Aether extrahirt, die ätherische Schicht durch Scheidetrichter getrennt, und der Aether abdestillirt. Wird der Rückstand der fractionirten Destillation unterworfen, so geht zunächst ziemlich viel unverändertes Xylol über; von 200° ab destillirt ein schwach gelblich gefärbtes Oel, welches besonders aufgefangen und dann wiederholt rectificirt wurde. Es wurde so ein constant zwischen 224 bis 225° bei 715 mm Bst. siedendes Product erhalten, welches, wie die Analyse zeigte, das gesuchte Orthoparadimethylacetophenon, $COCH_3 : CH_3 : CH_3 = 1:2:4$, war und jedenfalls mit dem von Ad. Claus[6]) durch Erhitzen von Metaxylol mit Chloracetyl und Aluminiumchlorid erhaltenen Keton identisch ist.

0.435 g Substanz gaben 1.2871 g CO_2 und 0.324 g H_2O.

	Ber. für $C_{10}H_{12}O$:	Gefunden:
C	81.08	80.70 Proc.
H	8.1	8.27 „

[1]) Ber. **7**, 1418.
[2]) Ebenda **11**, 18.
[3]) Ebenda **12**, 1968.
[4]) Ebenda **18**, 1712.
[5]) Ebenda **20**, 870.
[6]) Ebenda **19**, 230.

Die Ausbeute an Keton beträgt gut 25 Proc. des angewendeten Xylols. Hingegen wird auf diese Weise aus dem alkalischen Destillat nach Einengen und Fällen mit Salzsäure verhältnissmässig wenig Xylylsäure gewonnen.

5 g des Ketons wurden in einem Kölbchen mit 11 g Brom versetzt — also der theoretisch erforderlichen Menge, um das Dibromid zu erhalten — und dann etwa 48 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Der ausgeschiedene Körper wurde schliesslich aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, aus welchem er sich nach zweimaliger Krystallisation in sehr schönen rhombischen Prismen ausscheidet. Er schmilzt bei 69°. Merkwürdiger Weise ergaben die Analysen zweifellos, dass es das Tribromsubstitutionsproduct ist, welches auf diese Weise erhalten wurde.

0.2825 g Substanz gaben 0.4132 g AgBr.

0.1866 g Substanz gaben 0.2109 g CO_2 und 0.045 g H_2O.

	Ber. für $C_{10}H_9OBr_3$:	Gefunden:
C	31.17	30.82 Proc.
H	2.34	2.68 „
Br	62.34	62.24 „

Nachdem wir den Verlauf der Reaction am m-Xylol kennen gelernt hatten, wurden die gleichen Versuche mit den beiden anderen isomeren Xylolen (ebenfalls von Kahlbaum bezogen) angestellt.

Das p-Xylol führte zur Xylylsäure, $COOH:CH_3:CH_3 = 1:2:5$, welche bei 132° schmilzt. Diese Säure wurde zuerst von Jakobsen[1]) beschrieben.

Das o-Xylol lieferte die Xylylsäure $COOH:CH_3:CH_3 = 1:3:4$ mit dem Schmelzpunkt 163°.

Die aus dem käuflichen, nicht in die einzelnen Isomeren getrennten Xylol dargestellten Xylylsäuren hatten beträchtliche Abweichungen in den Schmelzpunkten; so erhielten wir eine bei 118° schmelzende Säure, während ein anderes Xylol zu einer Xylylsäure mit dem Schmelzpunkt 97.° führte. Dies scheint die o-Xylylsäure zu sein ($COOH:CH_3:CH_3 = 1:2:6$). Dass es wirklich Xylylsäure war, wurde durch Analysen bestätigt.

0.1856 g Substanz gaben 0.4909 g CO_2 und 0.1193 g H_2O.

0.1793 g Substanz gaben 0.4735 g CO_2 und 0.1145 g H_2O.

	Berechnet:	Gefunden:	
C	72.0	72.13	72.02 Proc.
H	6.66	7.14	7.10 „

Von den sechs theoretisch möglichen Dimethylbenzoësäuren wurden somit nach dem von uns angewandten Verfahren vier dargestellt. Niemals gelangten wir jedoch zur Mesitylensäure ($COOH:CH_3:CH_3 = 1:3:5$) oder zur bisher unbekannten Xylylsäure $COOH:CH_3:CH_3 = 1:2:3$. Das o-Xylol, aus welchem letztere Säure hätte entstehen können, giebt stets nur die Xylylsäure $COOH:CH_3:CH_3 = 1:3:4$.

Als Metaxylol mit Buttersäure und Chlorzink erhitzt wurde, war nach Auflösung des Chlorzinks nur eine Schicht wahrnehmbar und schon nach geringem Zusatz von $POCl_3$ und kurzem Kochen nahm die Flüssigkeit eine bräunliche Färbung an, worauf

[1]) Ber. 14, 2111.

der Process sofort unterbrochen wurde. Aus der im Dampfstrome destillirten Schmelze wurde durch Ausschütteln des Destillates mit Aether ausser Xylol noch ein nach wiederholter Rectification zwischen 240 bis 250° siedendes Oel gewonnen, von sehr angenehmem, ein wenig an Citronenöl erinnerndem Geruch, das jedenfalls das Xylylpropylketon, $C_8H_9—CO—CH_2—CH_2—CH_3$, war. Die geringe Menge des Rohproductes verhinderte uns, das Keton völlig rein darzustellen. Deshalb wurden auch bei der Elementaranalyse nur annähernd mit der Formel $C_{12}H_{16}O$ stimmende Zahlen erhalten.

0.263 g Substanz gaben 0.7836 g CO_2 und 0.2098 g H_2O.

	Ber. für $C_{12}H_{16}O$:	Gefunden:
C	81.82	81.26 Proc.
H	9.09	8.86 „

Aus dem alkalischen Destillat wurde nach Einengen mit Salzsäure wenig Säure gefällt, die sich nach Umkrystallisiren aus Alkohol durch ihren Schmelzpunkt, 122°, als Orthoparaxylylsäure erwies.

Die besten Ausbeuten sowohl an Ketonen wie Carbonsäuren wurden aus Essigsäure und den drei isomeren Xylolen erhalten. Aus Benzol konnten wir trotz Variation der Bedingungen weder Acetophenon, noch Benzoësäure erhalten. Bei Anwendung von Cymol muss das Kochen mit $POCl_3$ längere Zeit andauern, aber selbst in diesem Falle erhielten wir durch Ausziehen mit Natronlauge und Fällen mit Salzsäure nur wenig von der erwarteten Säure, die mehrmals durch Lösen in verdünnter Soda und Fällen mit Salzsäure gereinigt wurde. Die Elementaranalysen ergaben, dass es eine Cymolcarbonsäure war $= C_6H_3 . CH_3 . C_3H_7 . CO_2H$, Schmelzpunkt 62°. Die Säure ist daher mit der von E. Paternó und P. Spica[1]) erhaltenen identisch. Aus Naphtalin und Essigsäure haben wir ebenfalls bei Anwendung dieser Reaction nichts erhalten, das Naphtalin blieb unverändert.

Obgleich fast ein Dutzend Methoden zur Darstellung aromatischer Carbonsäuren existiren, so ist doch die von uns beschriebene deshalb von Interesse, weil gleichzeitig auch die Ketone entstehen und aus der Säure die relative Stellung der Ketongruppe bestimmt werden kann. Wahrscheinlich ist die intermediär entstehende Verbindung mit Phosphoroxychlorid die Ursache der die Ausbeute vermindernden Verharzung. Wir haben daher das Phosphoroxychlorid zu umgehen gesucht und ein Gemenge von Chlorzink, Metaxylol und Acetylchlorid in einem mit Rückflusskühler verbundenen Kolben erhitzt. Die Flüssigkeit nimmt zunächst eine gelbliche Farbe an, die sich sehr bald in eine dunkelbraune verwandelt, worauf der Process beendigt ist. Bei Verarbeitung geringer Mengen war dies nach kaum 15 Minuten der Fall. Das Reactionsproduct wurde zunächst mit Wasser erwärmt, um das Chlorzink zu entfernen; das dabei oben abgeschiedene braune Oel wurde im Dampfstrome destillirt, das Destillat mit Soda alkalisch gemacht und mit Aether extrahirt. Der Rückstand wurde fractionirt und gab eine Ausbeute von nahezu 25 Proc. an Dimethylacetophenon. An Säure wird aber auf diese Weise nur wenig gewonnen. Der Vorgang mit Propionylchlorid verlief ebenso. Wir erhielten auf die nämliche Weise das schon früher von Ad. Claus und E. Fickert[2]) beschriebene Xylyläthylketon, jedoch keine Säure.

[1]) Ber. **12**, 2366.
[2]) Ebenda **19**, 3182.

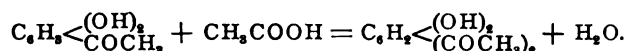
Untersuchungen über die aromatischen Oxyketone

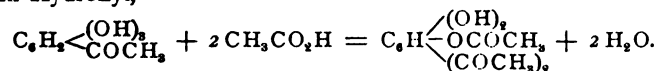
von

P. Crépieux.

Bulletin soc. chim. [3] **6**, 151. — Nach dem Referate von Dr. Schertel abgedruckt. Ber. **24**, 770. Ref.

Diese Arbeit ist im Anschlusse an die Arbeiten von Nencki[1]), A. Goldzweig und A. Kaiser[2]) und H. Frey und M. Horowitz[3]) unternommen worden. 20 g Chlorzink mit 50 g Eisessig werden in einem Kolben unter Erwärmen gelöst und darauf mit 10 g Resacetophenon versetzt, welches rasch mit tiefrother Färbung aufgenommen wird. Sobald dieses geschehen, fügt man in kleinen Portionen 10 g Phosphoroxychlorid hinzu, worauf eine Reaction mit Entwickelung von Salzsäure eintritt, welche man bei 140 bis 150° eine halbe Stunde unterhält. Das Reactionsproduct wird in Wasser gegossen und aus kochendem Wasser oder verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Es besteht aus Resodiacetophenon,

$$C_6H_3<^{(OH)_2}_{COCH_3} + CH_3COOH = C_6H_2<^{(OH)_2}_{(COCH_3)_2} + H_2O.$$

Dasselbe schmilzt bei 180°, giebt in reinem Zustande mit Alkalien farblose Lösungen und erleidet in denselben selbst durch Kochen keine Zersetzungen. Es vereinigt sich leicht mit Phenylhydrazin zu einer krystallinischen gelben Verbindung, die bei 231° zu einer braunen Masse schmilzt und deren Zusammensetzung zu beweisen scheint, dass der Körper zwei Ketongruppen enthält. Das vom Verf. dargestellte Hydrazon des Resacetophenons bildet lange, blassgelbe Nadeln, welche bei 158° schmelzen und in den gewöhnlichen Lösungsmitteln leicht löslich sind. Lässt man Essigsäure und Chlorzink in Gegenwart von Phosphoroxychlorid auf Gallacetophenon wirken, so erhält man einen Körper, der bei 207 bis 209° schmilzt und wie Gallacetophenon mit tiefgrüner Farbe in Alkalien sich löst. Es treten bei der Reaction zwei Acetylgruppen in das Gallacetophenon, die eine davon an Stelle des Wasserstoffs, die andere für ein Hydroxyl,

$$C_6H_2<^{(OH)_3}_{COCH_3} + 2\,CH_3CO_2H = C_6H\begin{cases}(OH)_2\\ OCOCH_3\\ (COCH_3)_2\end{cases} + 2\,H_2O.$$

Die Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult scheint diese Formel zu bestätigen, indem sie 241 ergab (Theorie 252). Die dreifach acetylirte Substanz verbindet sich mit Phenylhydrazin zu einer bei 265° schmelzenden, in allen Lösungsmitteln unlöslichen Verbindung $C_{24}H_{24}N_4O_4$.

Wird die dreifach acetylirte Verbindung mit Kalilauge oder nach Liebermann's Vorgang[4]) mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt, so spaltet sich das an Stelle des

[1]) Journ. prakt. Chem. **23**, 147 u. 537. — Nencki's Opera omnia **1**, 571 u. 587.
[2]) Ebenda **43**, 86. — Dieser Band S. 236.
[3]) Ebenda **43**, 113. — Dieser Band S. 245.
[4]) Ber. **17**, 1680.

Hydroxyls eingetretene Essigsäuremolekül ab und man erhält Gallodiacetophenon, $C_6H\begin{cases}(OH)_3\\(COCH_3)_2\end{cases}$, eine bei 188 bis 189° schmelzende, in langen, farblosen, seidenartigen Nadeln krystallisirende Verbindung, die in Alkohol, Chloroform, Benzol und in geringem Grade in kochendem Wasser löslich ist. Mit kaustischem Natron giebt sie eine tiefgrüne Lösung. Mit Phenylhydrazin vereinigt sie sich zu dem in gelben Blättchen krystallisirenden, bei 246° schmelzenden Hydrazon, $C_{22}H_{22}N_4O_3$. Das Hydrazon des Gallacetophenons, $C_{14}H_{14}N_2O_3$, ein krystallinischer, gelber Körper, schmilzt bei 146°.

Dioxynaphtalin (1 . 2) wird durch die Einwirkung von Chlorzink und Essigsäure bei Gegenwart von Phosphoroxychlorid in einen bei 110° schmelzenden, in weissen Krystallen auftretenden Körper verwandelt, der jedoch nicht ein Keton, sondern ein Aether, $C_{10}H_6\begin{cases}OCOCH_3\\OCOCH_3\end{cases}$, zu sein scheint. Er bildet mit Phenylhydrazin eine Verbindung, welche mit dem von Zincke und Bindewald[1]) beschriebenen α-Naphtochinonhydrazid, $C_{10}H_6O(N_2HC_6H_5)$, identisch erscheint.

Es wurde versucht, die Oxymonoketone vollständig zu acetyliren und zu diesem Zwecke Gallacetophenon mit Essigsäureanhydrid und geschmolzenem gepulverten Natriumacetat erwärmt. Die Masse wurde in Wasser gegossen, wodurch ein Oel sich abschied, das nach einigen Stunden in eine Krystallmasse verwandelt war. Dieselbe schmolz bei 85°. Die Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult gestattet die Annahme, dass drei Hydroxylgruppen durch Essigsäure ersetzt sind. Resacetophenon und Oxypropiophenon konnten nicht vollständig acetylirt werden.

[1]) Ber. 17, 3026.

1892

Ueber den Einfluss der Carboxylgruppe auf die toxische Wirkung aromatischer Substanzen

von

M. Nencki und **H. Boutmy.**

Arch. exper. Pathol. u. Pharmak. **30**, 300. — Archives des Sciences biol. **I**, 61.

Die Pharmakologie wird als „die Lehre von den im lebenden Organismus durch chemisch wirkende Substanzen hervorgebrachten Veränderungen, ohne Rücksicht darauf, ob sie für Heilzwecke gebraucht werden oder nicht“, definirt [1]. Es ist klar, dass, um dieses Ziel zu erreichen, einerseits die Kenntniss des lebenden Organismus, andererseits die der chemischen Constitution der wirkenden Substanz erforderlich ist. Die Erforschung der lebenden Organismen haben sich die verschiedenen Zweige der biologischen Disciplinen zur Aufgabe gemacht. Unser Wissen hierüber ist aber nur ein sehr stückweises und unvollkommenes. Anders verhält es sich mit der Kenntniss der wirksamen Substanzen. Die Aufgabe ist hier eine viel einfachere. Die chemische Constitution einer grossen Anzahl von wirksamen Verbindungen ist uns wohlbekannt. Bei vielen kennen wir alle Veränderungen, die sie im Organismus bis zu ihrem Uebergange in den Harn erleiden, und gerade die dabei gesammelten Erfahrungen haben uns wichtige Aufschlüsse über die chemischen Vorgänge in lebenden Organismen geliefert.

Warum eine chemische Verbindung auf die Organismen in bestimmter Weise einwirkt, eine andere, ganz nahe verwandte gegen dieselben aber indifferent ist, dies hängt ab einerseits von dem chemischen Bau des lebenden Organismus, unzweifelhaft andererseits aber auch von dem chemischen Bau der Substanz, die wir auf den Organismus einwirken lassen. Als ein Beispiel hierfür mögen die Untersuchungen von C. Binz und H. Schultz: „Ueber den Chemismus unorganischer Gifte“ angeführt werden. Das Leben der Zellen besteht in gleichzeitig verlaufenden Reductions- und Oxydationsprocessen. Die genannten Forscher zeigten, dass die Ver-

[1] Schmiedeberg, Grundriss der Arzneimittellehre. Leipzig 1883, S. 1.

bindungen von N, P, As, Sb, Bi, Va sämmtlich durch eine energische Steigerung des Sauerstoffumsatzes auf die Zellen einwirken, wobei sie gleichzeitig selbst (mit Ausnahme der dreibasischen Phosphorsäure) abwechselnd höhere oder niedere Oxydationsstufen eingehen. Nach Schultz werden die lebenden Zellen von solchen Giften stärker beeinflusst, die reducirend wirken, und zwar so, dass sie den atomistischen Sauerstoff aufnehmen. Daher sei z. B. arsenige Säure in ihrer Wirkung giftiger als die Arsensäure. Die die Hauptrolle spielende Reduction wird aber unterstützt durch die Oxydation und das chemische Verhalten des Oxydationsproductes. Phosphorige, salpetrige und arsenige Säure sind alle stark giftig, wenn sie in den Körper eingeführt werden; sie nehmen atomistischen Sauerstoff auf, wirken während dieses Vorganges als intensive Gifte, Zellen zerstörend und Leben vernichtend und verwandeln sich in Phosphorsäure, Salpeter- und Arsensäure. Führt man nun diese Säuren in den Organismus ein, so wird die Orthophosphorsäure nicht mehr reducirt, die Salpetersäure bildet unter bestimmten, ungünstigen Bedingungen Nitrit, wodurch Vergiftung eintritt; die Arsensäure wird rasch zu arseniger Säure reducirt. Daraus folgt, dass arsensaures Natron giftig wirken muss, salpetersaures giftig werden kann und phosphorsaures ungiftig sein muss. Nach der Ansicht von Schultz ist auch die Giftwirkung einer Reihe von Metallen auf die Fähigkeit, Sauerstoff durch ihre abwechselnde Oxydation und Reduction in Bewegung zu setzen, zurückzuführen.

Der Zweck der vorliegenden Abhandlung ist, an der Hand schon bekannter, theilweise auch von uns ermittelter Thatsachen zu zeigen, dass ähnlich, wie die dreibasische Phosphorsäure deshalb nicht giftig wirkt, weil sie mit Sauerstoff gesättigt und im Organismus nicht reducirt wird, eine Anzahl giftiger, aromatischer Verbindungen relativ ungiftig werden, wenn in ihr Molekül die mit Sauerstoff gesättigte und im Organismus nicht weiter reducirbare Carboxylgruppe eingeführt wird.

Benzol, C_6H_6, von Menschen innerlich eingenommen, wird in Dosen von 2 bis 8 g pro die vertragen[1]). Grössere Mengen wirken giftig. Schon bei den obigen Dosen tritt im Magen ein Gefühl von Vollsein, Druck und Brennen und Kopfschmerzen ein; nach grösseren Dosen wurde tiefe Narkose und auch Tod beobachtet. Auf niedere Thiere (Insecten, Trichinen) wirkt es stark giftig. Wie viel von dem innerlich eingenommenen Benzol gasförmig durch Ructus, Darm und Lungen unverändert entweicht und wie viel resorbirt wird, ist nicht bekannt. 20 bis 30 Proc. werden im menschlichen Organismus zu Phenol, noch kleinere Mengen zu Brenzcatechin und Hydrochinon oxydirt.

Die Benzolcarbonsäure, d. h. Benzoësäure, $C_6H_5.CO_2H$, ist entschieden weniger giftig. Nach Schulte[2]) treten erst bedrohliche Vergiftungserscheinungen bei 2 pro mille des Körpergewichtes ein. Nencki[3]) zeigte, dass 12 bis 16 g Benzoësäure pro die vom Menschen als Hippursäure ausgeschieden werden. Ueberschreitet man diese Grenze, so findet sich im Harn neben Hippursäure auch unveränderte Benzoësäure vor.

---

[1]) Nothnagel, Handbuch der Arzneimittellehre. Berlin 1887, S. 478.

[2]) Derselbe, l. c. S. 493.

[3]) Reichert und Du Bois-Reymond's Archiv f. Physiologie 1870. — Nencki's Opera omnia 1, 30.

Das Naphtalin, $C_{10}H_8$, ist für die meisten Pilze und niederen Thiere ein heftiges Gift. Von höheren Thieren und Menschen wird es dagegen viel besser vertragen. 1 bis 2 g verursachen bei Hunden leichten, 5 g starken Durchfall. Bei Menschen wurden nach grossen Dosen (5 g pro die) Reizsymptome im Bereich der Harnwege, namentlich Strangurie beobachtet [1]). Wie viel von dem per os verabreichten Naphtalin resorbirt wird, ist jedenfalls nicht bekannt. Nach Nencki und Leśnik [2]) wird ein Theil des resorbirten Naphtalins zu α-Naphtol oxydirt und als Naphtolglycuronsäure und Naptolätherschwefelsäure ausgeschieden.

Ueber die giftige Wirkung der Naphtalincarbonsäure, $C_{10}H_7CO_2H$, liegen unseres Wissens keine Beobachtungen vor. Nencki [3]) hat von dieser zuerst von A. W. Hofmann [4]) dargestellten Säure 1.5 g innerlich eingenommen, ohne irgend eine Störung zu beobachten, und die Säure aus dem Harne unverändert erhalten.

Vom Pyridin, das sich vom Benzol nur durch Substitution einer CH-Gruppe des Kerns durch N unterscheidet, wissen wir durch die Arbeit von W. His [5]), dass es als Methylpyridylammoniumhydroxyd, $C_5H_5N.CH_3.OH$, ausgeschieden wird und als essigsaures Salz in Dosen von 1 g pro die Erbrechen und Durchfälle verursacht. Das im gleichen Verhältniss zu Naphtalin stehende Chinolin, C_9H_7N, verursacht nach Donath [6]) in Dosen von 0.2 bis 0.3 g pro die Mattigkeit und Betäubung. 0.6 bis 1 g sind bei Kaninchen tödtlich. Bei Menschen wurde es als Arzneimittel in Dosen von 1 bis 2 g pro die verabreicht. Ueber das Verhalten der Pyridin- und der Chinolincarbonsäuren im Organismus liegen unseres Wissens keine Versuche vor. Man kann aber a priori erwarten, dass sie nicht oder nur sehr wenig giftig sein werden.

Die hydroxylirten Derivate des Benzols sind alle mehr oder weniger starke Gifte. Ueber die toxische Wirkung des Phenols liegen zahlreiche Angaben vor. Für Menschen sind Dosen von 1 bis 2 g pro die nicht mehr indifferent [7]). Von den Dioxybenzolen ist nach Brieger das Brenzcatechin, wo die zwei Hydroxyle in der Orthostellung sich befinden, relativ am giftigsten, dann das Hydrochinon und zuletzt das Resorcin, welcher letztere Körper eine Zeit lang als Antipyreticum in Dosen von 2 bis 3 g pro die angewendet wurde [8]).

Was zunächst die Carbonsäuren des Phenols betrifft, so ist es bekannt, dass die Oxy- und Paraoxybenzoësäure selbst in grossen Dosen unschädlich sind. Die antiseptische und antifebrile Wirkung der Orthosäure, d. h. der Salicylsäure ist allgemein bekannt. Für den thierischen Organismus ist aber durch den Eintritt des Carboxyls, selbst in der Orthostellung, die Giftigkeit des Phenols sehr herabgesetzt und wird bekanntlich die mittlere, therapeutisch angewendete Dose von 4 bis 6 g pro die vom

[1]) Nothnagel, l. c. S. 485.
[2]) Ber. 19, 1534 und Archiv f. exp. Path. u. Pharm. 24, 171. — Dieser Band S. 24 u. 65.
[3]) Reichert u. Du Bois-Reymond's Archiv 1870. — Nencki's Opera omnia 1, 27.
[4]) Ber. 1, 38 (1868).
[5]) Festschrift zu C. Ludwig's 25jährigem Jubiläum. Leipzig 1886. Verl. Hirschfeld.
[6]) Nothnagel, l. c. S. 677.
[7]) Derselbe, l. c. S. 468.
[8]) Derselbe, l. c. S. 480.

Menschen gut vertragen. Ueber die physiologische Wirkung der isomeren Resorcylsäuren und der Hydrochinoncarbonsäuren ist unseres Wissens nichts bekannt. Von der Carbonsäure des Brenzcatechins — der Protocatechusäure — wird von Baumann und Herter[1]) angegeben, dass ein Hund nach Eingabe von 3 g dieselbe theils unverändert, theils als Aetherschwefelsäure ausgeschieden hat. Der Versuch wurde von C. Preusse[2]) wiederholt und einem Hunde in 2 Tagen 8 g Protocatechusäure als Natronsalz gereicht. Dass irgend eine toxische Wirkung stattfand, wird von den genannten Autoren nicht angegeben.

Das Pyrogallol — ein dreifach hydroxylirtes Benzol — wirkt stark giftig, hauptsächlich wegen der Sauerstoffabsorption in alkalischer Lösung. Nach Jüdell[3]) zerstört das Pyrogallol im Organismus die rothen Blutkörperchen und verursacht Hämoglobinurie und Thrombenbildung. In einem Versuch von Baumann starb ein Hund nach Eingabe von 1 g Pyrogallol nach 5 Stunden. Ein anderer, grösserer erhielt etwa 4 g Pyrogallol. Das Thier zeigte bald darauf grosse Mattigkeit und eine schmutzigbraune Verfärbung der sichtbaren Schleimhäute. Der schwarzbraune Urin gab die blauschwarze Farbenreaction mit oxydhaltigem Eisenoxydulsalz. Die Aetherschwefelsäuren waren im Harne bedeutend vermehrt. An den folgenden Tagen wurde ein hellerer Urin entleert, und nach 5 Tagen hatte sich der Hund vollständig erholt[4]). Die Carbonsäure des Pyrogallols — die Gallussäure — ist nicht giftig und hat weder antipyretische, noch antiseptische Wirkung. Von Menschen werden Dosen von 2 bis 4 g pro die gut vertragen. Auch bei den Naphtolen hat die Einführung des Carboxyls einen die Giftigkeit abschwächenden Einfluss. β-Naphtol, innerlich Hunden in Dosen von 1 bis 1.5 g verabreicht, wirkt tödtlich, unter Auftreten von Speichelfluss, Hämoglobinurie und Krämpfen[5]). Ueber die physiologische und antiseptische Wirkung der α- und β-Oxynaphtoësäure liegen Untersuchungen von Ellenberger und Hofmeister[6]) und A. Lübbert[7]) vor. Danach wird die Fäulniss von Fleischwasser sicher verhindert bei Säureverdünnungen von 1 : 1200. Die tödtliche Dose von α-Oxynaphtoësäure bei Kaninchen ist 3 g. Bei Hunden und Schafen treten nach Dosen von 4 g Vergiftungserscheinungen auf, doch erholen sich die Thiere vollständig. Ein Theil der Säure geht unverändert in den Harn über. Die β-Naphtoësäure ist in ihrer toxischen und antiseptischen Wirkung der α-Säure gleich.

Die physiologische Wirkung der isomeren Oxypyridine und Oxychinoline ist unseres Wissens nicht bekannt. Nach den Versuchen von S. Królikowski und M. Nencki[8]) ist die o-Oxychinolincarbonsäure auch in grösseren Dosen nicht giftig. Die Säure wird von Hunden in Gaben von 4 g täglich gut vertragen und unverändert ausgeschieden.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **1**, 263.
[2]) Ebenda **2**, 332.
[3]) Hoppe-Seyler's med.-chem. Untersuchungen. Tübingen 1868.
[4]) Baumann und Herter, l. c. S. 250.
[5]) Nothnagel, l. c. S. 486.
[6]) Deutsche Zeitschr. f. Thiermedicin und vergl. Pathol. **13**.
[7]) Fortschritte der Medicin **6**, 1888.
[8]) Wiener Monatshefte f. Chem. **9**, 208. — Dieser Band S. 89.

Aus obiger Zusammenstellung geht hervor, dass die aromatischen Kohlenwasserstoffe und Phenole für den Thierkörper giftiger sind, als die zugehörigen Carbonsäuren. Benzol, Naphtalin, Phenol, Naphtol wirken reducirend, d. h. sie werden in den Geweben hydroxylirt: Benzol zu Phenol, Naphtalin zu Naphtol und die so entstandenen oder dem Körper zugeführten Oxyverbindungen unterliegen noch weiterer Hydroxylirung: das Phenol zu Hydrochinon und Brenzcatechin, das Naphtol zu Dioxynaphtalinen. Diese hydroxylirten Derivate werden als Aetherschwefelsäuren oder als Glycuronsäuren ausgeschieden. Die aromatischen Carbonsäuren dagegen unterliegen in den Geweben keiner Oxydation. Sie werden entweder unverändert oder mit Glycocoll gepaart ausgeschieden. Nach den bekannten Versuchen von Schmiedeberg und Bunge findet diese Paarung vorwiegend erst in den Nieren statt. Auch bei den Aminen hat die Einführung des Carboxyls einen die toxische Wirkung herabsetzenden Einfluss. Die Giftigkeit des Anilins, das theils unverändert, theils als Paramidophenol ausgeschieden wird, ist allgemein bekannt [1]). Nach Salkowski's [2]) Versuchen werden von Hunden 5 g der Metamidobenzoësäure pro die gut vertragen. Erst nach Dosen von 10 g trat Erbrechen ein. Beim Menschen bemerkte Salkowski wiederholt nach 5 g der Säure als Natriumsalz nur leichte Brechreizung und Uebelkeit. Die Säure wird theils als Uramidobenzoësäure, theils als Amidohippursäure, theils unverändert ausgeschieden.

Orthoamidophenol ist weniger giftig als Anilin. Doch starb in einem von uns angestellten Versuche ein erwachsenes Kaninchen in 5 Stunden nach subcutaner Injection von 2 g dieses Körpers unter Krämpfen, ähnlich wie bei der Anilinvergiftung. Hingegen sind die Orthoamidosalicylsäure, $C_6H_3 . \begin{matrix} CO_2H\,(1) \\ OH\ \ (2) \\ NH_2\ \ (3) \end{matrix}$, und die Paramidosalicylsäure, $C_6H_3 . \begin{matrix} CO_2H\,(1) \\ OH\ \ (2) \\ NH_2\ \ (5) \end{matrix}$, selbst in Dosen von 10 g pro die bei Menschen und mittelgrossen Hunden ganz unschädlich. Die beiden Säuren werden nach Versuchen, die Herr Dr. J. Pruszyński [3]) in unserem Laboratorium angestellt hat, als entsprechende Uramidoxybenzoësäuren ausgeschieden.

Der Einfluss des Carboxyls auf die Verminderung der Giftigkeit findet nicht allein bei den aromatischen Kohlenwasserstoffen, Aminen und Phenolen, sondern auch bei complicirt zusammengesetzten aromatischen Verbindungen statt. Es geht

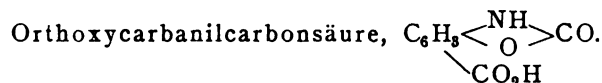
---

[1]) In ihrer bekannten Arbeit „Ueber die Veränderungen, welche namentlich organische Stoffe bei ihrem Uebergang in den Harn erleiden", sagen Wöhler und Frerichs [Liebig's Annalen 65, 343 (1848)] bezüglich Anilin Folgendes: „Es wirkt nicht giftig; im Harn wurde es nicht wiedergefunden." Diese irrige Angabe ist seither auch in andere Werke übergegangen; so z. B. in Fehling's Handwörterbuch der Chemie 1, 574 sagt A. W. Hofmann unter Berufung auf die Arbeit von Wöhler und Frerichs: „Anilin übt eine schädliche Wirkung auf Kaninchen, Frösche und Blutegel, nicht aber auf Hunde aus." Thatsächlich sterben kleinere Hunde bereits nach Gaben von 1.5 bis 2 g essigsauren Anilins pro die [vergl. O. Schmiedeberg, Archiv f. exp. Path. u. Pharm. 8, 10 (1878)].

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 7, 94.

[3]) Gazeta Lekarska 1889, Nr. 49. — Dieser Band S. 141.

dies aus folgenden, mit der Oxycarbanilcarbonsäure, Malonanilsäure und Phenacetincarbonsäure angestellten Versuchen hervor, die wir in Folgendem beschreiben wollen:

Orthoxycarbanilcarbonsäure, $C_6H_3{<}^{NH}_{O}{>}CO$. $\diagdown CO_2H$

Nachdem das Acetanilid unter dem Namen Antifebrin durch Cahn und Hepp im Jahre 1887 in die Therapie eingeführt worden, haben kurz darauf Jaffé und Hilbert[1]), sowie Mörner[2]) das Verhalten des Acetanilids im Organismus des Menschen und der Thiere untersucht. Jaffé stellte fest, dass bei Hunden nur ein kleiner Theil des verfütterten Acetanilids zu Paramidophenol oxydirt werde. Der Hauptsache nach geschieht die Umsetzung derart, dass unter gleichzeitiger Oxydation des Anilinrestes zu Orthoamidophenol und der Acetylgruppe zu COOH zunächst eine Verbindung entsteht von der Zusammensetzung: $C_6H_4{}^{(1)\ HN.COOH}_{(2)\ OH}$ (Oxyphenylcarbaminsäure), welche allerdings in freiem Zustande aus dem Harn nicht isolirt worden ist, da sie höchst wahrscheinlich in freiem Zustande nicht beständig, unter Abspaltung von Wasser sofort in ihr Anhydrid — das Carbonylamidophenol (Orthoxycarbanil) — übergeht. Das letztere lässt sich aus den mit Salzsäure erhitzten Harnextracten in grossen Mengen isoliren. Das Paramidophenol und die Oxyphenylcarbaminsäure werden bei Kaninchen und Hunden in Form ihrer Aetherschwefelsäuren: $C_6H_4{}^{.NH_2}_{.O.SO_3H}$ und $C_6H_4{}^{.NH.CO_2H}_{.O.SO_3H}$ oder mit Glycuronsäure gepaart ausgeschieden.

Der Umstand, dass das Orthoxycarbanil aus dem Harne nach Acetanilid erhalten wurde, veranlasste O. Gressly und M. Nencki[3]), das Verhalten des ersteren Körpers im Organismus näher zu untersuchen. Sie fanden, dass das Orthoxycarbanil im Organismus noch weiter hydroxylirt und hauptsächlich als Aetherschwefelsäure, $C_6H_3{<}^{NH}_{O}{>}CO$, $\diagdown O{-}SO_3H$ ausgeschieden werde. Die toxikologischen und therapeutischen Versuche mit diesen Körpern wurden von Prof. Demme in Bern angestellt[4]). Nach seinen Beobachtungen sinkt bei Kaninchen im Beginne der Wirkung des Oxycarbanils der Blutdruck, die Zahl der Herzcontractionen wird verlangsamt bei ungestörter Regelmässigkeit derselben. Die letale Gabe für 1 kg Körpergewicht beträgt 0.8 g. Bei Fröschen führt eine einmalige Gabe von 0.15 g, in die Gegend der Lymphherzen injicirt, zu lebhafter Schaumsecretion auf der gesammten Körperoberfläche und innerhalb 10 Minuten zu peristaltischen Ventrikelcontractionen und Stillstand des Herzens in Diastole. Von gesunden Menschen werden Dosen von 2 bis 3 g noch vertragen. Bei Fiebernden bewirkten Gaben

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, 295.
[2]) Ebenda **13**, 12.
[3]) Wiener Monatshefte f. Chem. **11**, 253. — Dieser Band S. 152.
[4]) 26. Bericht des Jenner'schen Kinderspitals, S. 50 (1889).

von 1 bis 2 g einen sehr prompten 1.5 bis 2° und darüber betragenden Temperaturabfall unter Schweissausbruch. Leider schnellte jedoch die Temperatur, unter Eintritt eines mässigen Frostes, schon nach 4 bis 6 Stunden wieder empor und erreichte die frühere Höhe, ja übertraf dieselbe zuweilen. Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob durch Einführung des Carboxyls in das Molekül des Orthoxycarbanils einerseits die Wirkung auf das Herz nicht schwächer, andererseits der Temperaturabfall bei Fiebernden nicht anhaltender werde. Auf die Bitte von Prof. Nencki wurde in der Salicylsäurefabrik in Radebeul bei Dresden in grösserer Menge die Carbonsäure des Orthoxycarbanils dargestellt und uns zu physiologischen Versuchen zur Verfügung gestellt.

Die Säure krystallisirt in weissen rhombischen Nadeln. In Wasser, selbst in heissem, ist sie fast unlöslich, schwer löslich in Alkohol und unlöslich in Aether. Die Lösungen geben mit Eisenchlorid eine rothbraune Färbung. In Alkalien ist sie leicht löslich und wird durch Säuren daraus gefällt. Im Capillarröhrchen schmilzt sie erst gegen 300° unter Zersetzung.

Bei mittelgrossen Hunden in Dosen von 5 g pro die war die Säure vollkommen ungiftig. Sie erbrachen nicht und zeigten nicht die geringsten Zeichen von Unbehagen. Soweit die Säure resorbirt wird, passirt sie auch den Organismus unverändert und kann leicht durch Ansäuern des Harnes mit Salzsäure, wobei sie sich krystallinisch abscheidet, nachgewiesen werden. Um sie aus dem Harne in grösserer Menge zu erhalten, wurde derselbe auf das halbe Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, heiss filtrirt und nach dem Erkalten mit Salzsäure gefällt. Die Orthoxycarbanilcarbonsäure fällt dabei als ein gelber, krystallinischer Niederschlag fast vollständig aus. Um sie völlig rein zu erhalten, wurde der ausgewaschene Niederschlag in verdünnter Soda gelöst, mit Thierkohle gekocht und das Filtrat mit Salzsäure zersetzt. Die jetzt abgeschiedene Säure war ganz weiss und abfiltrirt, ausgewaschen und über SO_4H_2 bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab sie bei der Stickstoffbestimmung mit der Formel $C_8H_5NO_4$ übereinstimmende Zahlen.

0.4302 g der Substanz gaben bei 17° C. und 710 mm Bst. 18.2 ccm N-Gas = 8.1 Proc. N. Die Formel $C_8H_5NO_4$ verlangt 7.88 Proc. N. Im Capillarröhrchen erhitzt, begann auch dieses Präparat erst gegen 290° C. unter Schwärzung sich zu zersetzen. Irgend welche Umwandlungsproducte der Säure wurden weder in dem Alkohol, noch in dem Aetherextracte des Harns gefunden. Mit Rücksicht darauf, dass die Säure wegen ihrer Unlöslichkeit leicht in den Harnwegen Concretionen bilden könnte, haben wir von therapeutischen Versuchen Abstand genommen.

Malonanilsäure, $C_6H_5.NH.CO.CH_2.CO_2H$.

Wie aus der Formel ersichtlich, kann diese Säure als Acetanilid aufgefasst werden, in welchem ein Wasserstoff des Methyls durch Carboxyl ersetzt ist. Die Säure wird durch Einwirkung von Malonsäure auf Anilin erhalten [1]). Wir verdanken sowohl diese, als auch die Phenacetincarbonsäure der Freundlichkeit der Salicylsäurefabrik in Radebeul bei Dresden. Die Wirkung und das physiologische

[1]) **Rügheimer**, Ber. **17**, 235.

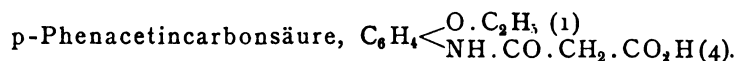
Verhalten des Acetanilids sind genau untersucht, und es war daher von besonderem Interesse, zu ermitteln, welchen Einfluss die Einführung des Carboxyls in die Seitenkette auf die toxische Wirkung des Acetanilids haben wird.

Die Malonanilsäure ist in heissem Wasser, Alkohol und Aether leicht löslich, krystallisirt in wasserhellen Tafeln und Blättern, ihr Schmelzpunkt liegt bei 135°, mit Eisenchlorid zeigt sie keine Färbung. Unsere Versuche wurden mit dem schön krystallisirenden, in kaltem Wasser leicht löslichen Natriumsalz angestellt.

Das Acetanilid wird bei Fiebernden in Dosen von 0.25 bis höchstens 1.0 g verabreicht. Von dem malonanilsauren Natrium wurden viel grössere Dosen von Kaninchen und Hunden vertragen, und nachdem wir gesehen hatten, dass ein Hund von 16 kg Körpergewicht 6 g des Salzes ohne jeden Einfluss auf sein Befinden mit dem Futter verzehrte, wurden auf der Klinik von Prof. Sahli in Bern einzelne Versuche bei Fiebernden, und zwár mit negativem Erfolg, angestellt. So erhielt ein an Erysipel erkrankter Mann 6 g des Natronsalzes pro die, ohne dass die Temperatur, welche bis zu 40° anstieg, abgefallen wäre. Die Malonanilsäure wird unverändert ausgeschieden. Der Harn des Patienten wurde auf dem Wasserbade zum Syrup eingedampft, nach dem Erkalten mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der abdestillirte Aether hinterliess einen etwas bräunlich gefärbten, krystallinischen Rückstand, aus welchem durch wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, der grösste Theil der verabreichten Säure unverändert rein erhalten wurde. Der Schmelzpunkt der aus dem Harn erhaltenen Krystalle lag bei 134°, und eine Stickstoffbestimmung ergab mit der Formel $C_6H_5NHCOCH_2CO_2H$ übereinstimmende Zahlen.

0.2300 g der Substanz gaben 16.6 ccm N-Gas bei 20° C. und 713 mm Bst. = 7.77 Proc. N. Die obige Formel verlangt 7.81 Proc. N.

Nach Eingabe von malonanilsaurem Natron findet auch keine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harne statt. So enthielt der Hundeharn am Tage vor der Eingabe in 100 ccm 0.2192 g SO_4H_2 der Salze und 0.01221 g SO_4H_2 gepaart. Am folgenden Tage nach 5 g des Salzes 0.1225 g SO_4H_2 der Salze und 0.00899 g SO_4H_2 gepaart. Das Verhältniss ist im ersten Falle wie 17 : 1, im zweiten = 13 : 1.

p-Phenacetincarbonsäure, $C_6H_4<{O.C_2H_5 (1) \atop NH.CO.CH_2.CO_2H (4)}$.

Unter dem Namen Phenacetin wurde im Jahre 1887 von Kast und Hinsberg das Acetylparamidophenetol, $C_6H_4<{O.C_2H_5 \atop NH.CO.CH_3}$ zur medicinischen Anwendung empfohlen. Wie aus der Formel ersichtlich, kann das Phenacetin als p-Oxyäthylacetanilid aufgefasst werden, und in gleichem Verhältnisse wie die Malonanilsäure zu Acetanilid steht die aus Paramidophenetol und Malonsäure erhältliche Säure von der in der Ueberschrift gegebenen Zusammensetzung zu Phenacetin, weshalb sie auch mit dem Namen Phenacetincarbonsäure bezeichnet wird. Bei Gesunden haben Dosen des Phenacetins von 0.5 bis 0.7 g keine Einwirkung, bei Fiebernden dagegen erfolgt nach 0.3 bis 0.4 g Temperaturerniedrigung von etwa 2° C., welche 6 bis 8 Stunden anhält. Als Antineuralgicum wird das Phenacetin in Dosen von 1 g angewendet.

Die p-Phenacetincarbonsäure krystallisirt in weissen rhombischen Nadeln, ist in Wasser nur wenig löslich, leicht in Alkohol und Aether und giebt mit Alkalien gut krystallisirende, in Wasser leicht lösliche Salze. Ihre Lösungen werden durch Eisenchlorid braunroth gefärbt. Der Schmelzpunkt der Säure liegt bei 137° C.

Ueber die Ausscheidung des Phenacetins ist Endgültiges noch nicht festgestellt. Bekannt ist nur, dass der Harn nach Phenacetin durch Eisenchlorid burgunderroth gefärbt wird und alkalische Kupferlösung reducirt. Herr Dr. Tschistowitsch hat in unserem Laboratorium Fütterungsversuche mit der Phenacetincarbonsäure an Kaninchen und Hunden angestellt und gefunden, dass die Säure selbst in grösseren Dosen vollkommen indifferent ist. Aus dem Harn eines 16 kg schweren Hundes, der während 5 Tagen täglich 5 g des Natronsalzes ohne jede Beschwerde vertrug, wurde die Säure unverändert wieder erhalten. Der zum Syrup eingedampfte und nach dem Erkalten mit Salzsäure angesäuerte Harn wurde mit Aether extrahirt. Der abdestillirte Aether hinterliess die nur wenig gefärbte Phenacetincarbonsäure, welche aus Wasser unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt und getrocknet bei 137° schmolz und bei der Stickstoffbestimmung folgende Zahlen ergab: 0.199 g der Substanz gaben 11.8 ccm N-Gas bei 24° C. und 711 mm Bst. = 6.40 Proc. N. Die Formel $C_6H_4<^{O.C_2H_5}_{NH.CO.CH_2.CO_2H}$ verlangt 6.28 Proc. N.

Auch hier sehen wir also, dass der Ersatz eines Wasserstoffs durch Carboxyl in der Seitenkette die toxische Wirkung des Phenacetins aufhebt. Diese Thatsache ist um so interessanter, als ein anderes Derivat des Phenacetins, in welchem der gleiche Wasserstoff nicht durch Carboxyl, sondern durch Amid ersetzt ist, nämlich die Verbindung: $C_6H_4<^{O.C_2H_5}_{NH.CO.CH_2.NH_2}$, ausgesprochene pharmakodynamische Wirkung hat und sogar von der Schering'schen Fabrik in Berlin unter dem Namen Phenocell für medicinische Zwecke patentirt wurde.

Die von uns durch zahlreiche Beispiele erwiesene Thatsache, dass der Eintritt des Carboxyls in verschiedene aromatische Verbindungen ihre toxische Wirkung vermindert oder ganz aufhebt, ist auch von praktischer Bedeutung. Bei wenig giftigen Substanzen wird man a priori erwarten können, dass durch Einführung des Carboxyls in ihr Molekül ihre Wirkung ganz aufgehoben, bei stark giftigen aber herabgesetzt wird, wodurch sie für therapeutische Zwecke geeigneter werden. Als Beweis dafür brauchen wir nur auf Phenol und Salicylsäure hinzuweisen. Allerdings ist hier die relative Stellung des Carboxyls zu Hydroxyl von wesentlicher Bedeutung. In einer späteren Mittheilung werden wir eine Reihe hierauf bezüglicher, von uns gemachter Beobachtungen veröffentlichen.

Aehnlich wie mit dem Ersatz des Wasserstoffs durch Carboxyl verhält es sich mit der Sulfogruppe. Benzol, Naphtalin, Phenol, Naphtol, sowie andere hydroxylirte Benzolabkömmlinge sind stärkere Gifte, als ihre Sulfosäuren. Es ist die Sulfongruppe, die, ähnlich wie das Carboxyl, der organischen Verbindung Beständigkeit den vitalen Processen gegenüber verleiht.

Neuerung in dem Verfahren zur Darstellung von Salolen

von

M. Nencki und **F. v. Heyden.**

D. R.-P. Nr. 57941 vom 7. September 1890, Cl. 29. Dritter Zusatz zum Patent Nr. 38973 vom 23. April 1886 [1]). Ber. **25**, 184, Ref.

Die neuen Salole werden dargestellt, indem bei dem Verfahren des Patentes Nr. 46756 (Zweiter Zusatz zum Patent Nr. 38973) zur Herstellung von salicylsaurem Guajacol die Salicylsäure durch o-, p- oder m-Kresotinsäure, oder durch p-Oxybenzoësäure, Benzoësäure, Anissäure oder p-Aethoxybenzoësäure und das Guajacol durch Kreosol ersetzt wird. Hiernach ergeben sich folgende neue Substanzen: o-, m- und p-kresotinsaures Guajacol bezw. Kreosol, p-oxybenzoësaures Kreosol bezw. Guajacol, benzoësaures Kreosol bezw. Guajacol, anissaures Kreosol bezw. Guajacol und p-äthoxybenzoësaures Kreosol bezw. Guajacol. Alle diese Körper sind in reinem Zustande farblos, geruchlos und fast geschmacklos. Sie werden durch Natronlauge und ebenso im thierischen Organismus in Guajacol- und Säuresalz verseift. Dieselben sind sämmtlich in Wasser fast unlöslich, können aus Alkohol umkrystallisirt werden und sollen als Heilmittel Anwendung finden.

Chemische Processe in den Eingeweiden des Menschen

von

M. Jakowski.

Arbeit aus dem Laboratorium von Prof. Nencki in Bern und aus dem Laboratorium bei dem Krankenhause Kindlein Jesu in Warschau. Arch. des sciences biol. I, 539. — Pamiętnik Towarzystwa lekarskiego w Warszawie. Heft 3. — Nach dem Referate von Prof. Sachsse abgedruckt. Chem. Centralbl. **64**, I, 431.

Verf. hat Gelegenheit gehabt, eine Fistel in dem Dickdarm und eine Fistel in dem Dünndarm bei zwei verschiedenen Kranken zu beobachten, und hat die daraus hervortretenden Fäcalmassen untersucht. Die Menge der aus der Dickdarmfistel entleerten Fäcalien betrug im Mittel täglich 150 bis 200 ccm. Die Entleerung erfolgte continuirlich, war aber 3 bis 4 Stunden nach der Mahlzeit besonders reichlich, in der Nacht dagegen fast Null. Die Masse hatte die Consistenz eines halbflüssigen Breies mit 6.27 Proc. Trockensubstanz, 86.03 Proc. derselben bestand aus organischen,

[1]) Dieser Band S. 65, 96 u. 126.

13.97 aus anorganischen Stoffen. In der Substanz liessen sich geringe Mengen von Eiweisssubstanzen nachweisen und nur schwache Spuren von Zucker oder wenigstens einer CuO reducirenden Substanz. Auch Peptone, Urobilin und Spuren von Gallensäuren waren vorhanden. Bei der Destillation der Fäcalmassen mit Zusatz von Oxalsäure wurde etwas CO_2, H_2S und Methylmercaptan erhalten. Die Destillate, auch ohne Zusatz von Oxalsäure, enthielten stets Skatol, Indol wurde niemals gefunden, ausserdem liessen sich Spuren aromatischer Oxysäuren, Phenol und beträchtliche Mengen von Alkohol nachweisen, und zwar Aethyl- und Butylalkohol. Die Entstehung dieser Alkohole erfolgt durch Gährung der Kohlehydrate unter dem Einflusse von Bacterien. Flüchtige Säuren der Fettreihe, die bei der Destillation mit übergingen, bestanden aus Capron- und Valeriansäure.

Die in dem Kolben nach der Destillation bleibende Flüssigkeit wurde filtrirt und bis zur Syrupsconsistenz eingedampft. In diesem Rückstande wurde Bernsteinsäure, vielleicht Skatolcarbonsäure, aromatische Oxysäuren, Peptone, Zucker und Leucin nachgewiesen, Milchsäure blieb unsicher. Von flüchtigen Basen wurde Ammoniak und Cadaverin (Pentamethylendiamin) gefunden.

Von Bacterien wurden aus den Fäcalmassen folgende isolirt: 1. Dünne, sehr bewegliche Stäbchen, 2.0 μ lang, 0.3 bis 0.4 μ breit. Dieselben coaguliren frisch gekochte Milch nicht und zersetzen Fleisch sehr rasch. Sie sind nicht pathogen. Nach ihren Eigenschaften kann man sie identisch mit dem Bacillus liquefaciens ilei ansehen, den Macfadyen, Nencki und Sieber[1]) beschrieben haben. 2. Kurze, dünne bewegliche Stäbchen, jedenfalls identisch mit dem Bacillus pyocyaneus Gessard. Die Inoculation einer Cultur in die Abdominalhöhle eines Kaninchens rief den Tod des Thieres in 24 Stunden hervor. Fleisch, das mit diesem Organismus inficirt wurde, ging rasch in Zersetzung über, wobei starke Gasentwickelung mit H_2S-Geruch auftrat. Das Gas bestand zu 18.45 Proc. aus H, zu 81.55 Proc. aus CO_2. Unter den Zersetzungsproducten des Fleisches wurde gefunden Methylmercaptan, Skatol, Spuren aromatischer Oxyverbindungen und viel flüchtige Fettsäuren. 3. Kleiner beweglicher Coccus, meist zu Ketten vereinigt. Derselbe entspricht nach seinem Habitus und seinen ganzen Eigenschaften dem von Escherich als Streptococcus coli gracilis beschriebenen Organismus. 4. Kurze, dicke, wenig bewegliche Stäbchen. Dieselben konnten nicht in Reincultur erhalten werden, sind aber wahrscheinlich identisch mit dem Organismus, den Miller in dem Verdauungscanal gefunden und als Bacterium aerogenes beschrieben hat. 5. Grosser beweglicher Diplococcus. Derselbe hat weder auf Milch, noch auf sterilisirtes Fleisch Einwirkung und ist den Thieren nicht pathogen. 6. Kurze, kommaartig gebogene Stäbchen, von denen eine Reincultur nicht gelang. 7. Grosser, gewöhnlich zu traubenförmigen Gruppen vereinigter Coccus. Derselbe zersetzt Fleisch nicht und ist nicht pathogen.

Aus der in einem anderen Falle vom Verf. beobachteten Dünndarmfistel wurden im Mittel pro Tag 300 g entleert. Die Masse war dünnflüssig und von schwachem Geruche, die Reaction schwach sauer, da keine HCl auffindbar war, von organischen

[1]) Dieser Band S. 200.

Säuren, namentlich von Essigsäure. Die Masse enthielt 9.75 Proc. Trockensubstanz und 90.25 Proc. Wasser. Die Trockensubstanz bestand aus 90.05 Proc. organischen und 9.95 Proc. unorganischen Stoffen. Eiweiss, Zucker, Peptone und Gallenfarbstoffe waren vorhanden, von Gasen CO_2 und Spuren von H_2S; die Destillate enthielten aromatische Oxyverbindungen und etwas Aethylalkohol. Da der Kranke keinen Alkohol erhielt, so ist dessen Entstehung aus der Thätigkeit von Mikroorganismen zu erklären. Von nicht flüchtigen Säuren fanden sich Bernsteinsäure und etwas Milchsäure (inactive).

Von Bacterien wurden isolirt: 1. Kurze, bewegliche Stäbchen. Dieselben waren pathogen und zeigten sich mit Bacillus coli commune Escherich verwandt. Trotzdem glaubt Verf., dass B. Bischleri vorlag, weil dieser Organismus aus Kohlehydraten optisch inactive Milchsäure bildet, während B. coli commune active Milchsäure bildet. 2. Kleiner, zu Ketten vereinigter Coccus, pathogen, nach Form, Grösse und Habitus mit dem von Macfadyen, Nencki und Sieber beschriebenen Streptococcus liquefaciens ilei v. acidi lactici identisch[1]. 3. Grosser beweglicher Diplococcus. 4. Kleine, kurze, bewegliche Stäbchen, durch die Eigenschaften der Culturen und das Fehlen pathogener Wirkungen identisch mit B. liquefaciens ilei. 5. Gewöhnliche Hefe. 6. Bacillus pyocyaneus. 7. Lange, bewegliche Stäbchen.

Beiträge zur Lehre von den Bacterien des blauen Eiters (Bacillus pyocyaneus)

von

M. Jakowski.

Arbeit aus dem Laboratorium von Prof. Nencki in Bern und aus dem Laboratorium bei dem Krankenhause Kindlein Jesu in Warschau. Zeitschr. f. Hygiene und Infectionskrankheiten **15**, 474. — Gazeta Lekarska 1892, Nr. 49, 50. — Nach dem Referate von Dr. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. **65**, I, 475.

Bouillonculturen von B. pyocyaneus entwickelten neben H_2S und Methylmercaptan ein Gasgemenge, welches aus 18.45 Proc. H und 81.55 Proc. CO_2 bestand. In den Culturflüssigkeiten fanden sich unbedeutende Spuren von Alkohol, aromatische Oxyverbindungen, deren Natur nicht näher untersucht worden ist, Skatol, Buttersäure, Skatolessigsäure, sobald das Wachsthum der Bacterien bei Abwesenheit von Sauerstoff in einer CO_2-Atmosphäre vor sich ging. Bei Luftzutritt war Skatolessigsäure nicht vorhanden. Der blaue Farbstoff, das Pyocyanin, tritt intensiver auf, wenn man die Bacillen durch den thierischen Organismus geschickt hatte.

Wichtig ist, dass der B. pyocyaneus ohne Luftzutritt zu wachsen vermag; er kann also im Darmcanal existiren und die Zersetzungen der darin vorhandenen Eiweisssubstanzen beeinflussen.

[1]) Dieser Band S. 198.

Vorkommen des Pentamethylendiamins in Pankreasinfusen

von

B. Werigo.

Pflüger's Archiv **51** 362. — Nach dem Referate von Prof. Sachsse abgedruckt. Chem. Centralbl. **63**, I, 487.

Die Pankreasinfuse wurden durch 24- bis 48stündige Maceration der frischen, fein zerhackten Drüse mit dem fünffachen Gewichte Wasser und etwas Chloroform bei Zimmertemperatur bereitet. Wenn ein solches Infus durch Erhitzen enteiweisst und das Filtrat mit Pikrinsäure im Ueberschusse versetzt wird, so entsteht ein Niederschlag, der vorwiegend amorph ist, aber in geringer Menge einen krystallinischen Körper beigemischt enthält. Die Untersuchung dieser Krystalle ergab, dass sie eine Substanz enthalten, die der empirischen Zusammensetzung nach dem Brieger'schen Cadaverin (Pentamethylendiamin) entspricht. Ob die Identität weiter geht, musste Verf. wegen Mangel an Material unentschieden lassen. Die Krystallform des Pikrinsäuresalzes, die Zusammensetzung des Quecksilberdoppelsalzes, $C_5H_{14}N_2 . 2HCl . 2HgCl_2$ (nach Brieger krystallisirt dieses Salz mit 3 Mol. $HgCl_2$), spricht eher dafür, dass man es hier mit einem dem Brieger'schen Cadaverin isomeren Körper zu thun hat.

Man könnte annehmen, dass an der Entstehung des Cadaverins die Fäulniss Schuld sei, da trotz des Chloroformzusatzes die Pankreasinfuse doch meistentheils beginnende Fäulniss zeigten und einige Bacterien enthielten. Aus einem Pankreasinfuse, das von Nencki vor etwa sechs Monaten aus der ganz frischen Drüse dargestellt und seitdem vollständig steril geblieben war, konnte Verf. indess ebenfalls etwas von der Substanz darstellen, so dass man glauben kann, dass das Pentamethylendiamin unter der Wirkung des Enzyms entwickelt und folglich der grossen Reihe schon bekannter Substanzen, die bei der Pankreasverdauung entstehen, zugezählt werden muss. Will man vorsichtig in seinen Schlüssen sein, so kann man wenigstens behaupten, dass der Körper unter Bedingungen entsteht, die gewöhnlich für ganz aseptisch gelten. Auch im Inhalte des Darmes einer Patientin [1]), die wegen einer Darmfistel behandelt wurde, wurde Pentamethylendiamin gefunden, indess in so geringer Menge, dass es nur durch die mikroskopische Untersuchung des Pikrinsäureniederschlages nachgewiesen werden konnte.

---

[1]) Siehe die Arbeit von Dr. Jakowski, dieser Band S. 265.

Ueber die Asche des normalen Kothes. Beitrag zur Physiologie des Darmtractus

von

J. Grundzach.

Zeitschr. f. klin. Medicin 23, Heft 1 u. 2. — Gazeta Lekarska 1892, Nr. 3. — Nach dem Referate von Prof. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. 23, 316.

Verf. hat eine vollständige Analyse des normalen Kothes ausgeführt. Die Basen wurden in veraschtem, die Säuren in nur getrocknetem Kothe bestimmt. 100 g Koth gaben 23.4 g der trockenen Substanz, darin 2.915 g Asche. Auf 100 Theile Asche ergiebt die Analyse:

Kaliumoxyd	12.000
Natriumoxyd	3.821
Calciumoxyd	29.250
Magnesiumoxyd	7.570
Eisenoxyd	2.445
Chlor	0.344
Phosphorsäure (P_2O_5)	13.760
Schwefelsäure (SO_3)	0.653
Kieselsäure (SiO_2)	0.052
Sand	2 bis 4.46

Berechnet man sich daraus die Alkalimengen, welche von den vorhandenen Säuren gebunden sein können, so findet man die Zahl 22.13 Proc., während 77.87 Proc. der Alkalien an organische Säuren und Kohlensäure gebunden sein müssen. Andere Forscher wie Fleitmann (Jahresbericht für Chemie 1847 und 1848, S. 477) und Porter (Annal. Chem. Pharm. 71, 109) haben viel mehr Phosphorsäure und Schwefelsäure gefunden, weil sie dieselben in der Asche und nicht wie Verf. im Auszuge des Kothes bestimmt haben.

Da der Speisebrei im ganzen Verlaufe des Dünndarmes sauer ist, so ergiebt sich, dass die Secretion alkalischer Säfte im Dickdarm sehr beträchtlich sein muss, um alle diese Säuren neutralisiren zu können; ebenso müssen noch jene Säuren neutralisirt werden, welche durch den weiteren Zerfall des Eiweisses und der Kohlehydrate entstehen. Darin liegt wohl eine wichtige physiologische Function des Dickdarmes.

Ueber den Einfluss einiger organischer Substanzen auf die Eiweissgerinnung

von

B. Orzechowski.

Inaugural-Dissert. Bern. — Referirt von den Herausgebern.

Die vom Verf. untersuchten Substanzen waren Glycerin, Mannit, Trauben-, Rohr- und Milchzucker. Versuche mit Blutserum gaben folgendes Resultat. Gemische von 50 g Serum mit 50 g Glycerin, oder mit 25 g Glycerin und 25 g Wasser, oder sogar mit 5 g Glycerin und 45 g Wasser gerinnen nicht beim Kochen. Aehnliche gerinnungshemmende Wirkung erzielt man durch einen Zusatz anderer oben genannter Zuckerarten in 50 Proc. Lösung. Ihre Wirkung ist jedoch nicht so sicher, wie mit Glycerin. Dem letzteren steht der Milchzucker hinsichtlich dieser Eigenschaft am nächsten. Von wesentlicher Bedeutung aber für die gerinnungshemmende Wirkung ist das rasche Erhitzen und fortdauernde Umrühren. Aus denselben Mischungen, wenn man sie langsam auf dem Wasserbade erwärmt, scheidet sich das Eiweiss gallertartig ab. Dieselben Resultate hat Verf. mit Eiereiweiss bekommen. Die Versuche mit Caseïn, um dasselbe bei neutraler Reaction in Lösung zu behalten, blieben ohne Erfolg.

Arbeiten

aus dem

chemischen Laboratorium des kaiserlichen Institutes für experimentelle Medicin in St. Petersburg.

Recherches chimiques sur les microbes produisant l'inflammation des glandes mammaires des vaches et des chèvres laitières

par

M. Nencki.

Arch. des sciences biol. **I**, 25.

En 1890—1891 j'ai fait, par ordre du Ministère de l'agriculture du gouvernement suisse, une série d'études chimiques et bactériologiques sur les bactéries qui provoquent les maladies des glandes mammaires des vaches et des chèvres laitières.

Les altérations que subit le lait pendant les maladies des glandes mammaires ayant une importance majeure pour l'industrie de la Suisse, MM. Hess [1]), Guillebeau [2]), Schaffer [1]), Bondzyński [1]) et de Freudenreich [3]) avaient déjà fait, par ordre du Ministère de l'agriculture, des études sur ce sujet. Mon travail n'est donc que la suite des travaux de ces savants; il est loin d'être terminé, car il a été interrompu par mon départ pour Saint-Pétersbourg.

Néanmoins, les résultats que j'ai obtenus présentent, ajoutés aux travaux de mes prédécesseurs, un certain intérêt pour les personnes qui s'occupent de l'industrie laitière en Russie. D'autre part ces études peuvent avoir leur intérêt au point de vue hygiénique à cause du rôle important du lait dans la nourriture des enfants qui, on le sait, sont le plus sujets à contracter des maladies infectieuses. Le lecteur trouvera dans les ouvrages déjà cités de MM. Hess et Guillebeau tout ce qui concerne la classification des différentes inflammations de la mamelle chez les

[1]) Die Euterentzündungen des Rindviehes und ihre Bedeutung für die Milchwirthschaft von Hess, Schaffer und Bondzyński. Landwirthschaftl. Jahrbuch der Schweiz **2**, 1 (1888); **4**, 45 (1890).

[2]) Guillebeau, Ueber Ursachen der Euterentzündungen. Ebenda **4**, 27 (1890).

[3]) Freudenreich, Annales de Micrographie **2**, 353. — Landwirthschaftl. Jahrbuch der Schweiz **4**, 17.

vaches et chez les chèvres, soit que la maladie provienne de causes inconnues, ou de lésions des glandes, et enfin un sommaire de tous les ouvrages qui traitent de ce sujet [1]).

Dans toutes les formes d'inflammation de la mamelle on a toujours constaté la présence de bactéries dans le lait. Sur 67 cas d'inflammation de la mamelle M. Guillebeau a trouvé chaque fois des bactéries dans le lait; il a même réussi à provoquer par inoculation des ces bactéries une inflammation de la mamelle chez des animaux bien portants. On peut donc conclure de ces faits que les bactéries jouent un rôle important dans les maladies de la mamelle des vaches et des chèvres; toutefois l'inflammation des glandes mammaires peut aussi se produire sans la présence de bactéries, fait prouvé expérimentalement; il est vrai que ce dernier cas se présente très rarement dans la pratique vétérinaire. M. Guillebeau fait remarquer que M. Bong a pu provoquer l'inflammation des glandes mammaires par des cultures de bactéries stérilisées, c.-à.-d. par le produit d'échange vital de ces bactéries. On peut donc dire, en se basant sur cette expérience, que quelques bactéries n'ont pas par elles-mêmes d'influence sur les glandes mammaires, mais qu'elles affectent le tissu de l'organe par leurs produits de désassimilation.

Les modifications que subit le lait varient d'après les diverses formes de l'inflammation. D'après MM. Hess, Schaffer et Bondzyński, le lait subit peu d'altération quand les glandes mammaires ne présentent pas de symptômes apparents de la maladie, comme par exemple dans les affections catarrhales, quand les animaux sont atteints de la maladie du sabot ou d'influenza: dans toutes ces maladies, les affections des glandes ne sont que des symptômes secondaires. Mais, on observe une profonde altération du lait dans les cas de Mastitis parenchymatosa, de Mastitis tuberculosa et dans la maladie de la mamelle qu'on nomme en Suisse „sporadischer" et „gelber Galt". On s'aperçoit d'une faible altération du lait par son goût, par la formation anormale de la crème et par la presénce de petites coagulations albumineuses blanches, nommées „Gries", en suspension dans le lait. Les analyses de ce lait ont fait voir qu'il s'écartait peu de la composition normale; parfois la teneur en corps gras, et parfois la teneur en acide phosphorique avaient fortement baissé. Dans la plupart des cas le lait avait perdu, partiellement ou entièrement, la faculté de se coaguler sous l'influence de la présure; d'autres fois cette faculté avait au contraire augmenté.

Dans les cas les plus légers du mastitis parenchymatosa la secrétion du trayon malade présente un sérum blanc grisâtre, mêlé à une plus ou moins grande quantité de grands et de petits grumeaux de caséine blancs ou blanc-jaunâtres. On peut

[1]) Voir: Fuchs, Magazin 1841, S. 133. Haubner, Ebenda 1852, S. 1. Fürstenberg, Ebenda 1853, S. 420; Ebenda die Milchdrüsen der Kuh, Leipzig 1868, S. 124 u. 188. Dupont, Recueil de médecine vétérinaire 1871, No. 1. Ableitner, Oesterreich. Vierteljahrsschrift 1877, S. 170. Feser, Die polizeiliche Controle der Marktmilch. Vorträge für Thierärzte, 1878, 1. Serie, Heft 8 u. 9. Zorn, Die Anomalien der Milch. Ebenda 1881, Heft 5. Siedamgrotzky-Haubner, Landwirthschaftl. Thierheilkunde 1884, S. 200. Friedberger und Fröhner, Lehrbuch der speciellen Pathologie und Therapie **1**, 464 (1886) (mit Literaturverzeichniss). C. Harms, Erfahrungen über Rinderkrankheiten 1890, S. 164. C. Hess, Schaffer und Bondzyński, Landwirthschaftl. Jahrbuch der Schweiz **2**, 37 (1888).

prendre pour règle que, dans toutes les inflammations, le cas est d'autant plus grave que la secrétion est plus rouge et qu'elle contient plus de grumeaux de caséine, à l'exception toutefois des cas de mammites occasionnées par des corps étrangers. On observe presque toujours au debut de la maladie, pendant un temps plus ou moins long, une forte diminution du sucre de lait; parfois même, le sucre disparaît tout-à-fait. Dans la majeure partie des cas, la quantité des corps albuminoides augmente; ainsi M. Schaffer a observé un cas où les matières albuminoïdes atteignaient 16.65 %; et, chose étrange, c'est que cette teneur anormale d'albumine se retrouvait non seulement dans le lait du trayon malade, mais aussi dans le lait du trayon bien portant. D'après MM. Schaffer et Bondzyński ces matières albuminoïdes ne contenaient ni mucine, ni albumoses, mais seulement, outre la serumalbumine en petite quantite, de la paralbumine. La teneur du lait en corps gras avait, dans quelques cas, considérablement augmenté (jusqu'à 11.08 %); dans d'autres elle avait au contraire fortement baissé (jusqu'à 0.5 %). La quantité de cendres était généralement au-dessus de la moyenne qui est de 0.7 %. Dans un cas étudié plus spécialement la quantité des chlorures avait extraordinairement augmenté aux dépens des phosphates dont la proportion avait d'autant diminué.

J'extrais du travail déjà cité de M. Guillebeau tout ce qui concerne les bactéries qu'on a trouvées dans les diverses maladies de la mamelle, leurs propriétés, leur virulence, etc. [1]).

Guillebeau donne le tableau suivant des différentes formes des maladies des glandes mammaires:

1. „Gries“ passager:

Staphylcoccus mastitidis	2 cas
Galactococcus versicolor	1 „
Bacillus Guillebeau a	1 „
Sans bactéries	1 „
	5 cas.

2. „Gries“ chronique:

Staphylococcus mastitidis	5 cas
Galactococcus versicolor	3 „
„ fulvus	1 „
Streptococcus mastitidis sporadicae	1 „
Sans bactéries	7 „
	17 cas.

3. Inflammation parenchymateuse (vulgairément appelée „Viertel“):

Staphylococcus mastitidis	9 cas
Galactococcus versicolor	1 „
Bacillus Guillebeau a	10 „
„ „ b	1 „
	21 cas.

[1]) Schweizer landwirthschaftl. Jahrbuch 4, 32 (1890).

4. „Galt“ sporadique:

Streptococcus mastitidis	8 cas
Galactococcus versicolor	1 „
„ fulvus	1 „
Streptococcus mastitidis sporadicae	5 „
Bacillus Guillebeau a	3 „
Galactobacterium lactis	1 „
	19 cas.

Parmi les bactéries qui se rencontrent plus ou moins souvent, M. Guillebeau a trouvé dans 86 cas de mammite les espèces suivantes:

Staphylococcus mastitidis	dans 33 cas
Galactococcus versicolor	„ 12 „
„ fulvus	„ 5 „
„ albus	„ 2 „
Streptococcus mastitidis sporadicae	„ 8 „
„ „ contagiosae	„ 3 „
Bacillus Guillebeau a	„ 20 „
„ „ b	„ 1 „
„ „ c	„ 1 „
Chlorobacterium lactis	„ 1 „
	86 cas.

Dans les cas d'infection mixte on trouve presque toujours à côté d'autres microorganismes ou le staphylococcus mastitidis ou le bacillus Guillebeau a. M. Guillebeau ayant isolé et préparé des cultures pures des bactéries qui jouent le rôle principal dans les maladies des glandes mammaires, il restait encore à déterminer d'une manière précise l'influence de ces bactéries sur les albumines, sur les hydrates de carbone, sur les corps gras, ainsi que sur les produits de ces corps. Nous avons dit plus haut que M. Bong avait déjà démontré que les produits de la décomposition du lait par les bactéries peuvent à eux seuls produire une inflammation des glandes mammaires. MM. Bischler, A. Macfadyen et S. Dzierzgowski ont fait une étude chimique des produits d'échange vital du streptococcus mastitidis sporadicae et des bacilles Guillebeau a et c, tous trois isolés par M. Guillebeau. Ces études ont donné les résultats suivants.

Bacillus Guillebeau c[1]).

Ce microbe a été découvert par M. Guillebeau dans la mamelle d'une vache tuée comme étant la cause de l'inflammation d'une glande mammaire; son action nocive a été constatée par inoculation à un animal bien portant. M. Guillebeau a injecté, dans chacun des trayons d'une chèvre, 5 gouttes de culture de ce microbe. Le lendemain la chèvre mangeait peu et avait des frémissements, la mamelle était gonflée, plus dure et plus sensible que d'habitude; la secrétion du lait avait consi-

[1]) An dieser Stelle ist die Beschreibung der Untersuchungen über Streptococcus mastitidis sporadicae und Bac. Guillebeau a unterdrückt worden, da dieselbe schon früher von Prof. Nencki in seiner Arbeit „Ueber die Stoffwechselproducte zweier Euterentzündung veranlassender Mikroben“ abgedruckt worden ist. Siehe diesen Band S. 215. H.

dérablement diminué; le lait était filant et avait l'aspect d'une bouillie; après 24 heures il ressemblait à du petit-lait; une des glandes contenait beaucoup de gaz. A partir du troisième jour, l'état de la chèvre s'améliora, et le 8-me jour l'inflammation était passée; mais la secrétion du lait ne reparut pas.

Ce bacille est un court bâtonnet aux bouts arrondis, se rapprochant des coccus par sa forme. Sa grandeur moyenne est de 1 μ. Dans les cultures par piqûre sur gélatine, il forme le long de la piqûre une épaisse masse blanche, et à la surface un enduit blanc visqueux et granuleux, qui adhère à la gélatine et s'étire en longs fils quand on le touche par une aiguille de platine. Dans les cultures par stries à la surface de la gélatine, ce bacille s'étend en une masse blanche visqueuse, de contours irréguliers et dentelés. Dans les cultures plus âgées, la croissance de surface offre parfois l'aspect d'un réseau. Cet organisme ne liquéfie pas la gélatine.

Les milieux de culture liquides, le bouillon sucré, par exemple, deviennent filant après peu de temps; parfois même, le liquide prend une consistance gélatineuse; cette viscosité peut disparaître avec le temps. Le bacille Guillebeau c est un microbe facultativement anaérobie. M. Macfadyen, professeur à Londres, a étudié les produits de la décomposition du sucre par ce bacille [1]). Il a dissous 100 g de sucre de raisin et 50 g de carbonate de chaux dans 2 litres de bouillon de viande; il a stérilisé la dissolution à 120° et l'a ensemencée d'une culture de ce bacille sur gélatine. Il chassa l'air du ballon par un courant d'acide carbonique et plaça la culture à une température de 38°. Après 24 heures, la culture dégagea beaucoup de gaz; le liquide écumait fortement. On a analysé le gaz le 3-me, le 5-me et le 14-me jour, quand la fermentation touchait à sa fin; la culture donnait alors environ 100 ccm de gaz en 24 heures. L'analyse a donné les résultats suivants.

	Temperature = 0. Pression barométrique = 760 mm.		
	3-me jour; fort dégagement de gaz	5-me jour; dégagement de gaz plus faible	14-me jour; la fermentation touche à sa fin
Gaz analysé	51.359 ccm	37.04 ccm	49.36 ccm
Après absorption par la potasse	11.99	5.94	0.36
Après addition d'oxygène	59.263	20.94	5.42
Après l'explosion	41.00	12.15	4.90
Après addition de la potasse	41.00	12.15	4.89
	Résultats p. cent:		
Acide carbonique	76.65	83.96	99.25
Hydrogène	23.68	16.00	0.72

Ainsi, le gaz était composé de CO_2 et de H_2. La quantité de ce dernier a continuellement baissé: au commencement de la fermentation le gaz contenait près d'un quart d'hydrogène, après 5 jours il n'y en avait plus qu'un cinquième, après deux semaines sa teneur baissait jusqu'à 0.72 % en volume, tandis que l'acide carbonique atteignait 99.25 % du volume total. Il n'y avait pas de méthane.

[1]) Landwirthschaftl. Jahrbuch der Schweiz **4**, 64. — Dieser Band S. 160.

Des cultures aérobies ont été faites dans le même liquide. Dans les deux cas, le contenu des ballons a été analysé au bout de vingt jour. L'examen microscopique montra la présence de courts bâtonnets caractéristiques. Le liquide des cultures aérobies contenait seulement des traces de sucre non décomposé, tandis que les cultures anaérobies contenaient jusqu'à 38 g de sucre. Ainsi, la fermentation du sucre avait eu lieu plus rapidement au contact de l'air. L'analyse des liquides a donné, dans les deux cas, de faibles quantités d'alcool éthylique et d'acide acétique; le sel d'argent de cet acide contenait 64.55 % d'argent. L'acétate d'argent contient 64.67 % d'argent. En fait de produits de la décomposition, à part l'acide acétique, on trouva encore de l'acide lactique optiquement inactif, renfermant 18.82 % d'eau de cristallisation.

Afin de savoir si le bacille Guillebeau c peut décomposer les corps gras, le professeur Macfadyen a ajouté à 1 litre de bouillon de viande 2 % de graisse de boeuf de réaction neutre; il a ensemencé cette dissolution de bacilles, et l'a placée à l'étuve pour plusieurs semaines. La graisse n'a pas été touchée.

Ce microbe ne décompose pas non plus l'albumine. On a versé 2 litres d'eau sur 500 grammes de viande bouillie, on a stérilisé le tout, et on l'a ensemencé de bacilles. On a chassé l'air d'un ballon par un courant d'acide carbonique. Un autre ballon a été bouché par un tampon de ouate et placé à l'étuve à une température de 38°. Il n'y eut pas de dégagement de gaz; les cultures aérobies et anaérobies sont restées transparentes et, après plusieurs semaines, la viande n'avait pas subi de décomposition.

Il résulte de toutes ces recherches que les trois espèces de microbes qui produisent l'inflammation de la mamelle et principalement les bacilles Guillebeau a et c sont des ferments saprophytes; ils ne font fermenter ni l'albumine, ni les corps gras, mais seulement la glycérine et les hydrates de carbone, en produisant un fort dégagement de gaz. Leur action pathogène est peu considérable; des chats, nourris de lait infecté de bacilles Guillebeau a et c, ont eu seulement des catarrhes d'intestins.

Il est étonnant que des microbes si différents les uns des autres puissent produire la même inflammation de la mamelle. M. Guillebeau à lui seul, a isolé 11 espèces dans les cas de maladie qu'il a observés. Il a trouvé aussi que quelques-uns des saprophytes que l'on rencontre le plus fréquemment, mais qu'il n'avait jamais vus dans les cas d'inflammation de la mamelle, peuvent aussi produire l'inflammation de la glande, si on les y introduit. Tels sont, par exemple: les bacilles de la pomme de terre (bacillus mesentericus vulgatus et fuscus de Flügge) et d'autres saprophytes peu étudiés. Les inflammations de la mamelle qui présentent le même tableau clinique que la mastite parenchymateuse par exemple, ne sont pas forcément provoquées par une espèce de microbe, mais peuvent l'être indifféremment par plusieurs espèces. Ainsi, dans notre cas, cette inflammation a été provoquée par le staphylococcus de la mastite et par le bacille Guillebeau a. Le lait est un excellent milieu nutritif pour les microorganismes les plus divers, surtout si l'acide formé est éliminé par résorption, comme cela a lieu dans la glande vivante. D'un autre côté les acides que la plupart des organismes de fermentation forment en décomposant le sucre,

produisent l'irritation de la glande et provoquent l'inflammation. M. Guillebeau est dans le vrai, en disant que c'est aux produits de la fermentation du sucre, à l'acide lactique, à l'acide acétique et à l'alcool éthylique qu'il faut attribuer un certain effet irritant sur le système des canaux laitiers. On peut comparer les maladies de la mamelle aux inflammations et aux catarrhes de la vessie, avec cette différence que le lait est un milieu nutritif infiniment plus favorable que l'urine. Toutefois, ce n'est pas chaque espèce de microorganisme qui, introduit dans la glande mammaire, peut produire l'inflammation de cette glande et la décomposition du lait.

Prenant en considération ce qui précède, il m'a paru intéressant de rechercher quel résultat pourrait avoir l'introduction, dans les glandes mammaires, de différents microbes pathogènes. Le lait étant la nourriture la plus commune des enfants, nous avons commencé nos expériences avec des streptococcus pyogènes, de l'érysipèle, et de la scarlatine; remettant à plus tard les expériences avec d'autres microbes, tels que le microbe de la diphtérie, du typhus etc. Il nous a paru très-intéressant de savoir combien de temps peuvent vivre les microbes introduits dans la glande vivante et en quoi consistent les modifications que subit le lait sous leur influence. Nous avons fait la première expérience avec le streptococcus pyogenes sur une chèvre bien portante qu'on appelait „Mummenthaler". On trayait cette chèvre régulièrement à 8 heures du matin et à 5 heures du soir; tenue à l'étable et nourrie avec du foin et de l'avoine, elle donnait de 800 à 1000 ccm de lait par jour. Chaque jour on mesurait sa température. Nous avons dosé la teneur du sucre dans le lait en titrant avec la liqueur de Fehling, après avoir éliminé les albumines; quant aux corps gras, nous les avons dosés par le procédé de M. Werner-Schmidt, contrôlé par le docteur Bondzyński. Au lieu de déterminer directement la quantité d'albumine, nous avons dosé, par la méthode de Kjeldahl, la quantité d'azote contenu dans le lait, et nous avons calculé la quantité d'albumines d'après ce chiffre. Le tableau No. 1 donne les résultats de l'étude chimique et microscopique du lait de cette chèvre inoculée par le streptococcus.

Comme on le voit par ce tableau, une injection d'une dose relativement forte de streptococcus pyogenes a produit un catarrhe aigu d'un côté de la mamelle; ce catarrhe n'a provoqué ni l'inflammation de la glande, ni fièvre et est passé en trois jours. La sécrétion du lait avait diminué, il contenait une grande quantité de globules pyoïdes, sa teneur en sucre et en corps gras ainsi que son degré d'acidité avaient baissé. Comme après trois jours ni la chèvre, ni son lait ne présentaient aucun écart de la normale, nous avons alors cessé d'analyser le lait, nous contentant de contrôler sa qualité une fois par jour. Après 9 jours, le 25 mai, le lait du trayon droit se coagulait à l'ébullition. Le dépôt formé de cellules rondes n'avait pas augmenté, mais il contenait des streptococcus. Ayant ensemencé avec ce lait une gélatine nutritive, nous avons obtenu une culture pure de streptococcus pyogenes. A ce moment nous avons de nouveau recommencé les analyses du lait et nous avons continué avec quelques interruptions jusqu'au 21 Juin, quand le lait est devenu tout à fait normal, ot on pouvait croire la chèvre guérie. (Voir le tableau No. 1.)

Après 10 jours, le 3 juillet nous avons inoculé à cette même chèvre 2 ccm d'une culture de streptococcus pris dans un abcès sur le bras d'un enfant malade de la

scarlatine. La culture avait 6 jours et avait été préparée sur bouillon. L'action de ce streptococcus sur les milieux nutritifs contenant du sucre et de l'albumine a été étudiée par M-me Sieber-Schoumow[1]); ces études ont démontré que ce streptococcus n'est identique ni au streptococcus de l'érysipèle, ni au streptococcus pyogenes. C'est pourquoi, d'accord avec les travaux de M-me Marie Raskine, de M. Babès et autres, nous l'appellerons le streptococcus de la scarlatine. L'injection a été faite le soir après la traite. La chèvre resta bien portante, elle n'avait pas de fièvre; et ni le lendemain, ni les jours suivants on ne remarqua aucun changement dans sa mamelle. Le lait était considérablement modifié après l'injection du streptococcus. Il était verdâtre, contenait beaucoup de cellules pyoïdes, se coagulait à l'ébullition; sa teneur en sucre et en corps gras, ainsi que son degré d'acidité avaient diminué; mais, ce procès aigu ne dura que trois jours, après lesquels le lait avait presque ses qualités normales, et pendant les six jours qui suivirent, on ne remarqua aucune anomalie dans sa secrétion. Voir pour les détails de cette éxpérience le tableau No. 2.

Une injection de streptococcus de l'érysipèle dans la glande mammaire d'une chèvre provoqua, pareillement à l'injection du streptococcus pyogenes et du strept. de la scarlatine, un catarrhe aigu purulent qui prit un caractère chronique. Le 5 mai 1891 on opéra sur la chèvre „Jenny" de 3 ans qui donnait 1000—1300 ccm de lait par jour. Après avoir trait la chèvre, on injecta dans le trayon gauche 2 ccm d'une culture de streptococcus de l'érysipèle. La culture avait 5 jours et avait été préparée sur bouillon. La chèvre resta bien portante et n'eut pas de fièvre; on ne remarqua aucune réaction locale dans la mamelle. Ici aussi, le lait avait subi la même modification que celle qui s'était qroduite sous l'influence d'autres streptococcus. Il contenait beaucoup de cellules pyoïdes qui formaient un dépôt verdâtre assez considérable, si on le laissait reposer; il se coagulait à l'ébullition; la teneur en sucre et en corps gras avait fortement diminué, dans les deux jours qui suivirent l'injection. Voir pour les résultats de cette expérience le tableau No. 3.

Ici de même, la teneur en corps gras, en sucre, et le degré d'acidité avaient diminué. Mais ce qui est remarquable, c'est l'augmentation des combinaisons albuminoïdes qui avaient presque doublé en 3—4 jours.

Le cours chronique du catarrhe de la mamelle, chez la chèvre Jenny, après l'injection de streptecoccus de l'érysipèle, nous a engagé à faire la même expérience avec les coccus de l'érysipèle sur la chèvre Mummenthaler, qui à cette époque était tout-à-fait guérie du catarrhe de la mamelle, provoqué par l'injection de coccus de la scarlatine. Le 9 juillet nous avons injecté dans le trayon gauche 2 ccm de culture fraîche de streptococcus de l'erysipèle sur bouillon. La culture provenait d'un homme atteint de l'érysipèle au visage, et avait été ensemencée deux semaines auparavant. Ici aussi il se produisit, pendant la première journée après l'injection, un catarrhe aigu purulent. La teneur du lait en sucre et en corps gras avait baissé, tandis que la teneur en albumine avait augmenté. Après trois jours la phase aigue passa, et le lait reprit de nouveau ses qualités normales; sauf qu'il contenait des coccus et qu'il se coagulait à l'ébullition. Voir les détails de l'expérience sur le tableau No. 4.

[1]) Siehe unten.

Ainsi tous ces trois streptococcus provoquent un catarrhe aigu qui passe rapidement à l'état chronique, s'il est causé par le streptococcus de l'érysipèle. Pendant cette phase, le lait a sa composition normale, et c'est seulement sa coagulation à l'ébullition qui fait remarquer son caractère anormal. Les coccus injectés dans la glande y restent vivants pendant des mois entiers, tout en conservant leur virulence. Ce lait est tout au moins douteux comme aliment.

De nos recherches nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de microbes spécifiques provoquant l'inflammation de la mamelle. Il parait au contraire que le lait dans la glande vivante est un excellent milieu de culture, dans lequel peuvent croître et se développer beaucoup d'espèces de microbes. Les plus sérieuses inflammations de la mamelle sont provoquées par les microbes qui possèdent au plus haut degré la propriété de produire une fermentation. Les glandes sont très-sensibles, même aux corps indifférents qu'on y introduit. Des expériences de contrôle nous ont démontré que des injections de 2 ccm d'une dissolution stérilisée de sel marin à 0.6 $^0/_0$ dans la glande de chèvres bien portantes ont produit dans le lait, pendant le premier jour après l'injection, une augmentation des globules blancs du sang, qui est naturellement moindre que celle que l'on observe après l'injection de cultures de bactéries. Mais d'un autre côté, M. Guillebeau a déjà fait remarquer qu'on ne peut, dans aucun cas, comparer une glande mammaire bien portante à un ballon de verre rempli d'un bouillon de cultures. La glande vivante possède une certaine force de réaction, et elle est en état de repousser une faible invasion de microbes. M. Guillebeau fait surtout remarquer que les inoculations artificielles ne produisent d'inflammation que si on introduit une certaine quantité de culture, 5 gouttes par exemple. Une quantité moindre ne produit souvent aucun effet; il en est de même pour les injections de lait contaminé. Ceci explique pourquoi l'inflammation ne se produit pas toujours après chaque cas d'infection, ou après chaque lésion de la mamelle ou du trayon. Mais par contre, nous connaissons des cas de mastite provoquées par l'introduction dans le trayon d'une plume de pigeon ou d'un autre corps servant de cathétre. L'inflammation peut aussi avoir pour cause la malpropreté de l'étable. M. Guillebeau a vu dans une ferme des Alpes, 6 vaches sur 25, devenir malades parce qu'elles étaient tenues sur une litière sale et humide. L'allaitement des petits est aussi une cause prédisposante de maladie. Sur 51 cas de maladie, 34 cas, soit les deux tiers, ont eu lieu dans les quatre mois qui ont suivi la parturition.

Il serait certainement très-utile de prêter plus d'attention, au point de vue bactériologique, aux maladies de la mamelle pendant les épidémies de diphtérie, de typhus, de scarlatine, de rougeole etc. Nous avons vu qu'un lait d'aspect tout-à-fait normal peut contenir les coccus virulents de l'érysipèle, pendant plusieurs mois après la guérison d'un catarrhe aigu de la mamelle. Si même l'analyse du lait en temps d'épidémie, démontrait que le lait n'aide pas à propager l'épidémie, cette assurance seule serait déjà d'une grande importance au point de vue hygiénique.

Tableau No. 1.

Date de l'analyse	Indication du trayon: D. trayon droit, G. trayon gauche. Heure de la traite: M. matin, S. soir.	Température du corps de l'animal	Quantité de lait	Densité	Acidité d'après Soxhlet	Teneur p. cent.: Sucre	Combi-naisons azotées	Corps gras	Remarques
11 Mai	S. D.	39.1	215	1.0278	2.73	—	—	—	Le lait est tout-à-fait normal, ne se coagule pas à l'ébullition. Faible dépôt de cellules rondes.
	G.		225	1.0276	2.76	—	—	—	
12 „	S. D.	38.8	320	1.0280	2.70	4.06	3.51	4.09	Le lait est normal.
	G.		305	1.0275	2.63	4.10	3.58	4.15	
12—13 „	S. D.	39.4	200	1.027	2.80	4.30	3.61	4.20	Le lait est tout-à-fait normal. On a injecté dans le trayon droit de la chèvre 2 ccm d'une culture de 12 jours sur bouillon de Streptococcus pyogenes.
	G.		220	1.0275	2.80	4.16	3.58	4.12	
13 „	M. D.	38.7	260	1.0272	1.74	3.26	4.32	3.15	Le lait du trayon gauche est normal. Le lait du trayon droit se coagule en partie à l'ébullition; il est verdâtre. Il contient beaucoup de cellules rondes qui par le repos se déposent au fond et forment un épais dépôt de cellules pyoïdes et de diplococcus. Après qu'on eut retiré les albumines du lait, on n'y trouva pas de peptones. Les grumeaux d'albumine sont filants et visqueux.
	G.		315	1.0275	2.39	4.20	3.6	4.01	
13—14 „	S. D.	39.3	130	1.0263	1.96	2.73	4.71	2.35	Le lait du trayon droit se coagule entièrement; il contient encore plus de cellules rondes qu'hier. Les grumeaux de caséine sont filants. Il n'y a pas de peptones. Le lait du trayon gauche est normal, il ne se coagule pas à l'ébullition.
	G.		200	1.0275	2.46	4.12	—	—	

										peu de diplococcus.
	M.									
15 „		D.	38.4	350	1.0275	2.67	4.12	3.72	4.05	Le lait du trayon droit ne forme à l'ébullition que très peu de grumeaux. Le dépôt est très faible. Le lait du trayon gauche ne se coagule pas.
		G.		350	1.0276	2.67	—	—	—	
	S.									
15—16 „		D.	39.5	180	1.0279	2.73	4.09	3.52	4.14	Le lait du trayon droit donne très-peu de grumeaux. Le lait du trayon gauche ne se coagule pas. Le dépôt du lait des deux trayons est normal.
		G.		210	1.0278	2.84	—	—	—	
	M.									
16 „		D.	37.5	300	1.0275	2.54	4.20	3.56	4.21	Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation.
		G.		300	1.0276	2.63	—	—	—	
	S.									
16—17 „		D.	38.9	180	1.0282	2.39	4.10	2.61	4.13	Le lait du trayon droit ne se coagule pas et a les mêmes caractères normaux que le lait du trayon gauche.
		G.		175	1.0285	2.87	—	—	—	
	M.									
25 „		D.	37.8	210	1.0258	2.94	3.92	3.56	4.00	Le lait du trayon droit et le lait du trayon gauche forment à l'ébullition de petites coagulations.
		G.		230	1.0256	3.01	4.12	3.58	4.10	
	S.									
25—26 „		D.	38.0	210	1.0274	3.16	3.9	3.57	4.12	Le lait du trayon droit se coagule un peu. Le lait du trayon gauche donne des traces de coagulation.
		G.		320	1.0276	3.24	4.06	3.60	4.20	
	M.									
26 „		D.	38.2	260	1.0278	3.25	—	—	—	Idem.
		G.		220	1.0278	3.03	—	—	—	
	S.									
26—27 „		D.	38.2	200	1.0276	3 00	—	—	—	Idem.
		G.		210	1.0274	3.06	—	—	—	
	M.									
27 „		D.	38.7	215	1.0282	3.00	—	—	—	Idem.
		G.		250	1.0278	3.00	—	—	—	
	S.									
27—28 „		D.	38.6	260	1.0265	2.95	4.03	3 48	4.03	Le lait du trayon droit et le lait du trayon gauche donnent seulement des traces de coagulation.
		G.		300	1.0268	2.81	—	3.52	4.12	

3	"	M. D.	38.7	220	1.0289	2.39	—	—	—	Le lait du trayon droit est normal; il ne se coagule pas à l'ébullition. Le lait du trayon gauche est verdâtre; il se coagule en partie à l'ébullition. Les grumeaux de caséine sont filants. Au repos il se forme un dépôt considérable de cellules pyoïdes réunies en petits grumeaux.
		G.		170	1.0279	1.96	2.81	4.42	2.35	
3—4	"	S. D.	38.9	260	1.0280	2.20	—	—	—	Le lait du trayon droit est presque normal; à l'ébullition il donne des traces de coagulation. Le lait du trayon gauche est verdâtre. Le dépôt des cellules pyoïdes est plus considérable qu'hier. Le lait contient beaucoup de coccus. Ayant retiré les albumines on n'a trouvé dans le petit-lait ni albumoses, ni peptone.
		G.		150	1.0279	1.80	2.44	4.86	2.03	
4	"	M. D.	38.4	260	1.0294	2.23	4.13	—	—	Le lait du trayon droit est normal. Le lait du trayon gauche donne un dépôt de cellules pyoïdes un peu moindre.
		G.		170	1.0295	1.82	2.53	4.31	2.63	
4—5	"	S. D.	39.2	200	1.0301	2.73	—	—	—	Le lait du trayon droit est normal. Le lait du trayon gauche se coagule encore. Le dépôt est plus faible.
		G.		158	1.0283	2.02	3.68	4.01	3.12	
5	"	M. D.	38.2	260	1.0293	3.00	—	—	—	Le lait du trayon gauche est presque normal; à l'ébullition il donne très peu de grumeaux.
		G.		190	1.0300	2.86	4.06	3.78	3.52	
5—6	"	S. D.	39.5	142	—	3.00	—	—	—	Le lait des deux trayons est presque normal; le lait du trayon gauche donne des traces de coagulation.
		G.		160	—	3.02	4.13	3.72	3.86	
6	"	M. D.	39.2	305	1.032	2.98	—	—	—	Le lait des deux trayons est normal.
		G.		280	1.031	3.00	4.18	3.62	4.13	
7	"	M. D.	38.8	300	1.0301	3.00	—	—	—	Idem.
		G.		285	1.0311	2.80	—	—	—	
8	"	S. D.	—	180	1.0320	—	—	—	—	Idem.
		G.		180	1.0326	—	—	—	—	

Tableau No. 3.

Date de l'analyse	Indication du trayon: D. trayon droit, G. trayon gauche, Heure de la traite: M. matin, S. soir.	Temperature du corps de l'animal	Quantité de lait	Densité	Acidité d'après Soxhlet	Teneur p. cent.: Sucre	Combinaisons azotées	Corps gras	Remarques
5 Mai	M. D.	38.1	286	1.0248	2.90	4.02	3.54	3.90	Le lait des deux trayons est normal. Il ne se coagule pas à l'ébullition. Il contient une très petite quantité de globules blancs du sang (cellules pyoïdes).
	G.		280	1.0251	2.86	4.10	3.58	3.87	
5–6 „	S. D.	37.9	225	1.0258	2.87	4.10	3.50	3.92	Après la traite on a injecté dans le trayon gauche de la chèvre Jenny 2 ccm de culture du streptococcus de l'érysipèle.
	G.		210	1.0281	2.80	4.12	3.53	3.86	
6 „	M. D.	38.3	305	1.0252	1.52	3.00	4.25	3.21	Le lait du trayon droit est normal, le lait du trayon gauche se coagule à l'ébullition. Si on laisse reposer le lait, il s'y forme un dépôt considérable de cellules pyoïdes, d'une grande quantité de coccus et de globules de lait d'une forme irrégulière. Après avoir retiré les albumines, on n'a trouvé dans le lait ni albumoses, ni peptones.
	G.		315	1.0261	2.93	4.02	4.0	2.8	
6–7 „	S. D.	38.7	240	1.0268	2.83	4.13	—	—	Le lait du trayon gauche donne un dépôt assez considérable de cellules pyoïdes; à l'ébullition il se coagule presque entièrement. Le lait du trayon droit se coagule un peu.
	G.		160	1.0241	1.62	2.82	4.39	2.85	
7 „	M. D.	38.6	315	1.0260	2.83	—	—	—	Le lait du trayon gauche se coagule en partie. Le lait du trayon droit se coagule un peu.
	G.		300	1.0255	2.35	3.17	4.12	3.50	
7–8 „	S. D.	38.6	208	1.0257	2.84	—	—	—	Le lait des deux trayons donne un dépôt presque normal. Il se coagule peu à l'ébullition.
	G.		200	1.0253	2.73	3.81	3.78	3.82	
8 „	M. D.	39.0	315	1.0268	2.20	—	—	—	Le dépôt du lait des deux trayons est normal. Traces de coagulation.
	G.		310	1.0270	2.17	4.07	3.56	3.93	

9—10	„	S.	D.	38.2	180	1.0243	2.68	—	—	—	Idem.
			G.		145	1.0250	2.62	4.2	3.57	4.01	
10	„	M.	D.	38.2	325	1.0283	2.82	—	—	—	Idem.
			G.		324	1.0285	2.84	4.20	3.52	4.10	A partir de ce moment nous avons cessé les analyses, mesurant seulement chaque jour la quantité de la secrétion. Après 11 jours, le 21 mai, nous avons remarqué que le lait du trayon gauche, normal jusqu'à ce jour, se coagulait à l'ébullition, quoique le dépôt composé de globules blancs du sang fût assez faible. Les grumeaux de caséine étaient filants et assez durs Le dépôt contenait beaucoup de coccus. Le lait du trayon droit se coagulait aussi à l'ébullition, mais pas si entièrement que le lait du trayon gauche. Nous avons fait des cultures de ce lait sur plaques et nous avons obtenu principalement des coccus de l'érysipèle. Nous avons, pour contrôle de cette culture, fait une injection intraveineuse dans l'oreille d'un lapin. Ayant recommencé les analyses, nous avons obtenu les chiffres suivants.
21	„	S.	D.	38.6	200	1.0273	2.83	3.80	3.71	3.72	Le lait du trayon gauche se coagule en partie. Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le dépôt du lait du trayon gauche est faible; il contient beaucoup de coccus.
			G.		210	1.0274	2.87	3.92	3.60	3.78	
22	„	M.	D.	38.2	300	1.0266	2.61	4.02	—	4.06	Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le lait du trayon gauche se coagule un peu. Le dépôt est presque normal.
			G.		300	1.0264	2.38	4.10	3.54	3.80	
23	„	M.	D.	37.9	168	1.0281	2.46	4.02	—	—	Idem.
			G.		190	1.0280	2.70	3.82	3.58	3.90	
25	„	M.	D.	38.3	190	1.0271	2.61	4.09	—	4.01	Idem.
			G.		185	1.0268	2.54	4.03	3.56	3.81	
27	„	M.	D.	38.1	220	1.0260	2.71	—	—	—	Idem
			G.		185	1.0264	2.65	4.02	—	—	

Tableau No. 3 (Suite).

Date de l'analyse	Indication du trayon: D. trayon droit, G. trayon gauche. Heure de la traite: M. matin, S. soir.	Temperature du corps de l'animal	Quantité de lait	Densité	Acidité d'après Soxhlet	Teneur p. cent.: Sucre	Combi-naisons azotées	Corps gras	Remarques
7 Juin	M. D.	38.3	290	1.0276	2.73	4.25	—	—	Le lait du trayon gauche se coagule un peu. Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le dépôt du lait est normal; il contient des coccus.
	G.		280	1.0273	2.73	4.13	3.58	4.00	
14 „	M. D.	38.4	310	1.0270	2.76	4.20	—	—	Idem.
	G.		300	1.0268	2.80	4.03	3.62	3.95	
28 „	M. D.	37.9	210	1.0273	2.92	4.32	—	—	Le lait est presque normal. Le lait du trayon gauche se coagule un peu. Le lait du trayon droi donne des traces de coagulation. Cet état est resté sans changement pendant plus d'un mois. La chèvre se portait bien. Le lait contient des coccus, la secrétion et la composition du lait sont normales. Nous avons observé la chèvre encore pendant un mois et nous n'avons remarqué aucun changement dans l'état de l'animal, ni aucune modification dans la composition du lait. Les analyses du 5 et du 22 juillet ont donné les chiffres suivants.
	G.		202	1.0276	3.00	3.94	3.59	4.10	
5 Juillet	M. D.	38.0	300	1.0276	2.93	4.22	—	—	Le lait du trayon gauche se coagule très-faiblement. Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation.
	G.		300	1.0271	2.86	4.10	3.61	4.02	
22 „	M. D.	38.5	270	1.0276	2.76	4.18	—	4.12	Le lait du trayon gauche se coagule un peu. Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le dépôt du lait des deux trayons est normal; il contient des coccus. Le 2 août nous avons ensemencé ce lait sur plaques et nous avons obtenu des cultures pures des coccus de l'érysipèle. Nous n'avons pu, malheureusement, continuer nos observations sur cette chèvre.
	G.		280	1.0278	2.83	4.09	3.67	4.00	

Tableau No. 4.

										masses de globules du lait. Les grumeaux de caséine sont filants. Il ne contient ni peptones ni albumoses.
9—10 „	M. D.	—	310	1.0270	2.38	3.90	—	4.12		Le lait du trayon droit se coagule un peu. Le lait du trayon gauche se coagule entièrement à l'ébullition; il est verdâtre. Le dépôt est très considérable.
	G.		280	1.0272	1.16	1.80	7.83	2.02		
10 „	M. D.	39.0	160	1.0272	2.46	4.01	3.41	3.86		Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le lait du trayon gauche se coagule en partie. Les grumeaux de caséine sont filants. Le dépôt a considérablement diminué.
	G.		110	1.0270	1.52	2.74	6.23	2.81		
10—11 „	S. D.	—	310	1.0270	2.73	4.13	3.89	—		Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le lait du trayon gauche coagule un peu plus. Le dépôt a diminué.
	G.		210	1.0265	2.13	3.54	6.01	3.72		
11 „	M. D.	—	200	1.0275	2.74	—	3.9	—		Le lait du trayon droit donne des traces de coagulation. Le lait du trayon gauche coagule très-peu. Le dépôt est presque normal.
	G.		160	1.0272	2.35	3.92	5.71	3.98		
11—12 „	S. D.	—	310	1.02770	2.78	4.12	—	—		Le lait des deux trayons donne seulement des traces de coagulation. Le dépôt est normal.
	G.		280	1.02778	2.76	3.94	5.64	4.01		
14 „	M. D.	—	300	1.0278	2.64	—	—	—		Idem.
	G.		315	1.0280	2.68	4.05	3.61	4.08		
15 „	M. D.	—	253	1.0280	2.78	—	—	—		Le lait des deux trayons donne des traces de coagulation. Le dépôt est normal. Au microscope on y voit des coccus.
	G.		250	1.0278	2.65	3.91	3.61	4.03		
20 „	S. D.	—	130	1.0278	2.61	—	—	—		Idem.
	G.		130	1.0276	2.73	3.90	3.56	4.10		
26 „	M. D.	—	250	1.0283	2.73	—	—	—		Le lait du trayon gauche coagule un peu plus que le lait du trayon droit. Il est normal; il contient des coccus.
	G.		240	1.0285	1.89	3.81	3.60	3.95		
3 Août	M. D.	37.8	220	1.0276	2.78	4.13	—	4.06		Le lait des deux trayons donne des traces de coagulation. Le dépôt est faible; il contient des coccus. Ces coccus cultivés sur plaque ont donné une culture pure de streptococcus de l'érysipèle.
	G.		220	1.0277	2.81	3.95	3.61	4.00		

Die Eck'sche Fistel zwischen der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen für den Organismus

von

M. Hahn, O. Massen, M. Nencki und **J. Pawlow.**

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **32**, 161. — Arch. des sciences biol. **1**, 401. — Aus den Laboratorien der Herren M. Nencki und J. Pawlow im kaiserl. Institut für experimentelle Medicin zu St. Petersburg.

I. Physiologischer Theil von O. Massen und J. Pawlow[1]).

Im Jahre 1877 wurde im Journal für Kriegsmedicin (Bd. 131)[2]) eine Mittheilung des Herrn Dr. N. Eck publicirt über eine eben so kühne als sinnreiche Operation, die er im Laboratorium des Prof. J. Tarchanow ausgeführt hatte. Dieselbe bestand darin, das Blut aus der Pfortader in die untere Hohlvene zu leiten. Zu dem Zweck stellte er eine künstliche Oeffnung zwischen beiden Venen her und unterband die Pfortader dicht vor ihrem Eintritt in die Leber. An acht Hunden wurde die Operation ausgeführt. Einer starb am Tage der Operation, sechs lebten 2 bis 7 Tage, ein Hund lebte $2^1/_2$ Monate, dann entwich er aus dem Laboratorium. In sieben Fällen trat der Tod ein, theils in Folge von Bauchfellentzündung, theils in Folge von Darm- und Netzverschlingung. In zwei Fällen, wo der Durchmesser der Oeffnung zwischen beiden Venen nicht grösser war als 1 cm, fand man ausserdem Coagulationen in der Milzvene; in einem dieser Fälle waren die Venen verstopft und die Milz vergrössert. In den Fällen, wo die Oeffnung $1^1/_2$ bis 2 cm lang war, waren die Venen nicht verstopft, und die Blutcirculation war demgemäss nicht behindert gewesen. Als kühner Chirurg glaubte der Autor durch die Versuche die Frage des operativen Eingriffs in Fällen von Stauung in der Leber lösen zu können. Er hielt demgemäss das Haupthinderniss dieser Operation für beseitigt, denn er war überzeugt, dass das Blut der Pfortader ohne Gefahr für den Organismus durch eine vollkommen sichere Operation direct in den allgemeinen Blutkreislauf übergeführt werden könne.

Im Jahre 1882 veröffentlichte Dr. J. Stolnikow in seiner Arbeit „Die Stellung von hepaticarum im Leber- und im gesammten Kreislaufe"[3]) die Resultate, welche er bei Wiederholung der Eck'schen Operation erhalten hatte. Stolnikow konnte den von Eck gewonnenen Resultaten wenig Neues hinzufügen. Der Verf. machte aber keine Angaben über die Todesursachen. Die Leber hatte normale

[1]) Mit Genehmigung von Prof. J. Pawlow lassen wir in extenso auch den ersten Theil dieser Arbeit abdrucken. H.

[2]) Der Verf. hat über diesen Gegenstand eine Mittheilung in der naturwissenschaftlichen Gesellschaft in Petersburg, in der Sitzung vom 8. März 1878, gegeben. (Arbeiten der naturforschenden Gesellschaft in Petersburg **10**, 1879, Bericht der zoologischen Abtheilung.)

[3]) Pflüger's Archiv.

Grösse und enthielt wenig Blut. Die makroskopische und mikroskopische Untersuchung zeigte keine Abweichung von der Norm. Die Gallenblase war mit Galle gefüllt, die Eingeweide enthielten auch Galle (bei Lebzeiten hatten die Fäces normale Farbe), Lebernekrose wurde in keinem Falle gefunden.

Diese beiden Mittheilungen machen die ganze Literatur über die Venenfisteln aus. Aus dem Gesagten folgt, dass die Eck'sche Operation in der That im chirurgischen Sinne möglich ist, und dass sie nicht den unmittelbaren Tod des Thieres herbeiführt. Aber ist diese Operation vereinbar mit einer langen Lebensdauer des Thieres, bringt sie besondere physiologische Erscheinungen mit sich? Das ist bis jetzt nicht aufgeklärt. Der einzige Hund Eck's, welcher die Operation $2^1/_2$ Monate überlebte, entwich, so dass es unmöglich war, den Operationserfolg durch die Obduction des Thieres festzustellen. Und doch muss die Eck'sche Operation als wichtig und Interesse erregend bezeichnet werden. Es ist klar, dass im Falle des Erfolges sie uns die Mittel gewährt, bedeutsame Fragen der Physiologie, Pathologie und Pharmakologie der Leber zu klären. Wenn man bedenkt, dass wir in dem Laboratorium des neuen Instituts für experimentelle Medicin über alle modernen chirurgischen Hülfsmittel verfügen, die leider unseren Vorgängern, den Herren Eck und Stolnikow, nicht zu Gebote standen, so wird man es begreiflich finden, dass wir versucht waren, diese so interessante Operationsmethode von Neuem zu studiren. Die Wahl dieses Themas hat sich als eine ausserordentlich glückliche erwiesen: zwei andere Laboratorien unseres Instituts — das chemische und das pathologisch-anatomische — haben sich an dieser Arbeit betheiligt, welche dadurch eine Collectivarbeit geworden ist. Wir werden die Operationsmethode in ihren genauesten Details beschreiben, denn der Erfolg derselben hängt, bei der Genauigkeit, die sie im Allgemeinen erfordert, hauptsächlich von Details ab.

Wir wählten gewöhnlich junge Hunde von mittlerer Grösse mit breiter Brust und eingezogenem Abdomen. Bei Hunden mit schmaler Brust ist es sehr schwer, in der Tiefe des Abdomen zu operiren, hauptsächlich die Scheere einzuführen. Bei alten Thieren ist die Elasticität der Gefässwände so gering, dass jeder Nadelstich eine starke und langandauernde Blutung herbeiführt. Am Abend vor der Operation wird der Hund mit Carbolseife gewaschen. Am Tage der Operation erhält das Thier nicht seine gewohnte Nahrung; zwei Stunden vorher giebt man ihm nur 600 ccm Milch. Es schien uns, als ob diese letztere Maassregel das Blut weniger gerinnen mache, wodurch eine Coagulation in der künstlichen Fistel zwischen den Venen hintangehalten wird. Die Narkose wurde mit Morphium und Chloroform eingeleitet. Man spritzt zuerst in die V. saphena magna 0.09 g Morphiumlösung von 1 bis 2 Proc. Dann werden die Thiere während der ganzen Dauer der Operation in tiefer Chloroformnarkose erhalten [1]).

[1]) Die Operation fand in einem besonderen Zimmer statt, dessen Wände mit Oelfarbe angestrichen waren. Vor jeder Operation wurden die Wände, Fussboden und Decke mit einer Sublimatlösung gewaschen. Alle Instrumente wurden während einer halben Stunde bei 130° sterilisirt, ebenso die dazu benutzte Gaze. Die Schürzen des Operateurs und der Assistenten wurden im Autoclaven bei 140° sterilisirt. Die Operation wurde ohne Antiseptica ausgeführt. Erst nach derselben, ehe die Bauchwände zugenäht wurden, wurde die Bauchhöhle mit destillirtem Wasser, mitunter unter Zusatz von Sublimatlösung 1 : 1000, gewaschen.

Zunächst wird die Oberfläche der vorderen und seitlichen Partien der Bauchwände rasirt, mit Sublimat gewaschen und mit Aether und absolutem Alkohol getrocknet. Der Bauchschnitt wurde längs des äusseren Randes des M. recti abdominis gemacht, vom Rippenrande 10 bis 12 cm nach unten. Nach Trennung der Haut, sowie einer ganzen Reihe von Sehnen und Aponeurosen, zerschneidet man in der Tiefe den M. transversus abdominis 1 cm nach aussen von seiner Aponeurose. Das Peritoneum wird mit der Scheere auf dem Finger geöffnet. Der Assistent hält die Eingeweide nach links und unten zurück, während der Operateur den Hilus hepatis blosslegt. Darauf wird um die Pfortader nahe der Leber eine Ligatur gelegt, welche man noch nicht zuzieht [1]). Man muss dieselbe aber im Beginn der Operation anlegen, weil es sehr schwer ist, sie später anzubringen, wenn die Venen erst vernäht sind, und weil der Erfolg der Operation zum grössten Theil von der sorgfältigen Anlegung gerade dieser Ligatur abhängt. Die Hauptschwierigkeit besteht darin, dass die Stelle, an welcher die Ligatur angelegt werden darf, nur eine Länge von 5 bis 7 mm hat; oberhalb derselben theilt sich die Pfortader in ihre Leberäste; unterhalb findet man ihre letzte Verzweigung, die V. pancreatico-duodenalis. Auf diesem engen Raum findet man noch eine kleine zur Pfortader gehörige Vene. Wir haben dieselbe meist nicht berücksichtigt; denn wenn wir die Stelle über der Naht blosslegten, zerriss dieses kleine Gefäss von selbst oder wurde mit der Nadel geschlossen. Die Vena pancreatico-duodenalis ist an der Stelle, wo sie in die Pfortader mündet, etwas durch Fettgewebe verdeckt und darf sich nicht oberhalb der Ligatur befinden, hauptsächlich wenn man die Naht zu Ende der Operation anlegt. Wir selber haben dies beobachtet, sowie auch einer der oben genannten Autoren, wie er uns persönlich mittheilte. Dieser Punkt verdient aber ganz besondere Aufmerksamkeit, denn ist die Ligatur unterhalb der Einmündung der Vena pancreatico-duodenalis angelegt, so unterscheiden sich die Thiere sehr wesentlich von denen, bei welchen die Operation sorgfältig gemacht worden ist, d. h. bei welchen sich die Ligatur oberhalb der Einmündungsstelle der Vene befindet.

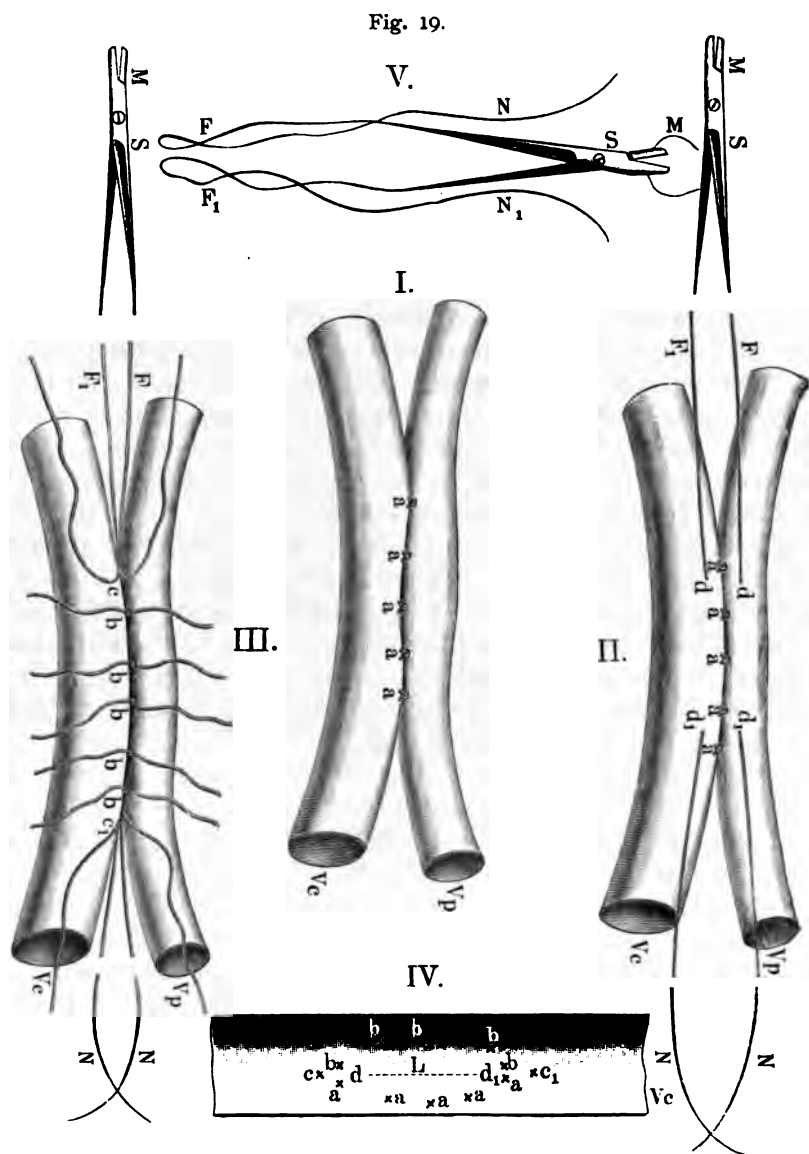
Nachdem so die Ligatur um die Pfortader gelegt ist, sucht der Assistent die Stellen der Venen auf (V. portae et cavae inf.), welche vernäht werden sollen. Es ist nicht schwer, die Venen einander nahe zu bringen, denn die Pfortader verschiebt sich leicht. Man näht die Pfortader an die untere Hohlvene, sobald man den grössten Theil ihrer Oberfläche gut überblicken kann; wenn sie mit Fettgewebe bedeckt ist, zerreisst man dasselbe mit der Nadel und entfernt es mehr oder weniger. Die erste Naht, welche die Venen verbindet, kommt auf die Pfortader 7 bis 10 mm unterhalb der Stelle, wo die V. pancreatico-duodenalis in dieselbe einmündet. Die Wand der unteren Hohlader wird an der correspondirenden Stelle durchbohrt. Die Naht geht durch die tiefgelegenen Theile der Aussenwand der Pfortader und der Innenwand der unteren Hohlvene. Man verwendet zu den Nähten sehr feine Seidenfäden von der Dicke eines Menschenhaares und feine runde gebo-

[1]) Diese Operation wurde immer beim Licht einer elektrischen, beweglichen Lampe ausgeführt, welche einer der Assistenten hielt. Eine Hälfte dieser Lampe war amalgamirt und diente so als Reflector. Ein so intensives Licht war unerlässlich wegen der Feinheit der Nadeln und des Fadens, deren wir uns bedienten.

gene Nadeln, wie sie die Augenärzte verwenden. Man fasst transversal mit der Nadel 1 oder 2 mm der Venenwände. Die Wand der Pfortader wurde von der Nadel ganz durchstochen, während in der unteren Pfortader die Nadel häufig nur eindrang, ohne die Wand zu durchbohren. Durch Anziehen des Fadens gelingt es leicht, die Gefässe zum völligen Contact zu bringen. Die zweite Naht wird 5 bis 7 mm dahinter angebracht (gegen die unteren Extremitäten des Thieres) [1]). Man macht im Ganzen 4 bis 5 Nähte, die von oben nach unten eine Curve bilden, und zwar so, dass die mittlere Naht sich im tiefsten Punkt befindet. Dann werden die Scheeren in die Gefässe eingeführt. Die Scheeren, deren sich die Herren Eck und Stolnikow bedienten, waren klein, unter einem bestimmten Winkel zum Scharnier zurückgebogen und endigten in feine biegsame Silberdrähte von 45 cm Länge, die ihrerseits in kleine gebogene Nadeln ausliefen. Diese Scheeren hatten, wie die Erfahrung zeigte, einen grossen Fehler. Sie bogen sich, aber sie durchschnitten die Venenwände nicht. Nach einigen Versuchen benutzten wir andere Scheeren, die wir als die praktischsten erprobten. Es waren dies Scheeren ohne Handgriffe mit messerartig geformten Schneiden. Die beifolgende Zeichnung (Fig. 19, V, a. f. S.) zeigt die Construction unseres Instrumentes und macht eine weitere Beschreibung entbehrlich. Bei Benutzung dieser Scheere muss man jedesmal darauf achten, dass die an ihren Enden gut angelötheten Silberfäden vollkommen biegsam sind; denn mit nicht elastischen Fäden könnte man die Venenwände zu früh durchschneiden. Ausserdem ist es wichtig, das Scharnier zu controliren; sobald die Schneiden nicht fest genug auf einander sitzen, muss man gewärtigen, die Venenwand zwischen die Messer zu bekommen, ohne sie durchschneiden zu können.

Nachdem die untere Nahtreihe angelegt ist, wird mit der Nadel des rechten Silberfadens der Scheere die Wand der Pfortader 5 mm vor der letzten Naht und 2 bis 4 mm darüber durchbohrt. Man führt die Nadel in die Pfortader ein und lässt sie 5 mm hinter der letzten Naht in gleicher Höhe, wie sie eingeführt wurde, austreten. Die gleiche Operation ist mit der linken Nadel des Instrumentes an der Hohlvene auszuführen; dann zieht man die Fäden bis auf die Hälfte ihrer Länge durch und überlässt sie einem Assistenten. Sodann wird zur Anlegung der zweiten (oberen) Nahtreihe geschritten. Die erste Naht dieser Reihe kommt gegenüber der ersten der unteren Reihe, 2 bis 4 mm oberhalb (oder nach innen auf die Pfortader und nach aussen auf die Hohlader) der Ein- und Austrittslinie der Scheerendrähte. Auf diese Weise befinden sich die Scheerenschneiden später zwischen der oberen und unteren Nahtreihe. Der Zwischenraum zwischen den Endnähten beider Reihen darf nicht kleiner sein als 4 bis 8 mm; denn die Scheeren müssen passiren können. Ausserdem legten wir, um die Möglichkeit einer Blutung beim Einführen der Scheeren zu vermeiden, noch eine Sicherheitsligatur an. Dazu fasst man mit der Nadel die Nachbarwände jeder Vene ungefähr in der Mitte der ersten Nähte beider Reihen und führt die Seidenfäden unter die Silberfäden ein. An die Enden dieser Fäden wurden Pean's Klemmen gelegt, um sie schnell finden und knüpfen zu können, nachdem die Oeffnung zwischen den Venen gemacht ist.

[1]) Der Hund ist immer auf dem Rücken liegend gedacht.

Fig. 19.

Schema der Venennaht und der Fisteloperation.

I. Erster Moment der Operation: Die beiden Venen sind durch eine Reihe Nähte vereinigt. V. p. Vena portae; V. c. Vena cava inf.; *aaaa* Naht, welche die beiden Venen vereinigt.

II. Zweiter Moment der Operation: Die Silberfäden der Scheere gehen durch die Venen. V. p. Vena portae; V. c. Vena cava inf.; *aaaa* erste, untere Nahtreihe; *d, d* Ein- und Austritt der Silberfäden der Scheere. *F, F* Silberfäden der Scheere; *N, N* Spitzen der Silberfäden; *S* Scheere; *M* Scharnier der Scheere.

III. Dritter Moment der Operation: Die beiden Venen sind durch die zweite, obere Nahtreihe vereinigt. V. p. Vena portae; V. c. Vena cava inf.; *bbbb* obere Naht-

reihe; *c, c* Sicherheitsnaht; *F, F* Silberfaden der Scheere; *N, N* Spitzen der Silberfäden, *S* Schere; *M* Scharnier der Scheere. Die Zeichnung ist nicht ganz deutlich, indem die linke Sicherheitsligatur in einer etwas zu grossen Entfernung von den linken Nähten, die die Venenwände vereinigen, angebracht ist.

IV. Anbringen der Nähte auf die Venenwände: *aaaa* erste, untere Nahtreihe; *bbbb* zweite, obere Nahtreihe; *c, c* Sicherheitsnaht; *d, d* Ein- und Austritt der Scheeren; *L* Schnittlinie der Scheeren.

V. Scheeren. *M* Ligatur, um die Scheere zu lenken; *F, F* Silberfäden; *N, N* Scheerenspitzen.

Dann legt man eine nach der anderen die Nähte der oberen Reihe an und zwar so, dass die obere Nahtreihe eine Curve mit der Krümmung nach oben bildet. Nach Ausführung der letzten Naht wird die andere Sicherheitsligatur an dem unteren Ende der Nahtreihen angebracht. Nun wird die Oeffnung hergestellt. Man zieht die Silberfäden durch die obere Oeffnung der genähten Stelle, so dass die Schneiden der Scheere, welche in das Gefäss nunmehr eindringen, die Venenwände in der Ausdehnung der Linie durchschneiden, welche durch die Eintritts- und Austrittsöffnung der Silberfäden begrenzt wird. So geht die Scheere leicht durch die vordere Oeffnung aus dem Gefäss heraus. In der Mehrzahl der Fälle ist die Blutung eine ziemlich bedeutende (Maximum 60 ccm). In diesem Augenblicke knüpft man rasch die beiden Sicherheitsligaturen. Häufig genug scheint der Bluterguss nur sehr kurze Zeit zu dauern, während des Eindringens der Scheeren, und die Sicherheitsligaturen sind demnach unnütz. Mitunter konnte man aber gerade ein langsames Sickern des Blutes durch die Oeffnungen in die Winkel der genähten Vene beobachten, wenn die Sicherheitsligaturen nicht fest angezogen waren. Wir haben aber auch Fälle gehabt, wo die Durchschneidung der Wände ohne den geringsten Blutverlust vor sich ging. Das erscheint leicht begreiflich, wenn man die Feinheit der Nadeln und die wohlbekannte Elasticität der Venenwände bedenkt.

Die Operation der Venenfistel ist damit beendigt. Es bleibt nur noch die Ligatur zu knüpfen, welche um die Pfortader im Anfang der Operation gelegt ist, und das Blut aus der Bauchhöhle mit dem Schwamm zu entfernen. Die Bauchwunde wird gewöhnlich mit einer einzigen Nadelreihe geschlossen, wobei zu beachten ist, dass die Ränder des Peritoneums gut an einander anliegen. Dann wäscht man die Wunde und pudert sie mit Jodoform; öfters wurde auch noch Collodium angewendet.

Die ganze Operation dauert 1 bis $1^1/_2$ Stunden. Wenn dieselbe auch keine aussergewöhnliche Geschicklichkeit voraussetzt, so zwingt sie doch den Operateur zu unausgesetzter Aufmerksamkeit und ist demgemäss ziemlich ermüdend.

Wir haben im Ganzen etwa 60 Hunde operirt; zwei Drittel davon starben in Folge von accidentiellen Ursachen, der Rest diente unseren Beobachtungen und Experimenten. Im Anfange, als wir uns noch nicht der oben beschriebenen Scheeren bedienten, verloren wir viel Thiere, weil, wie gesagt, die Scheeren des Herrn Dr. Eck sich als wenig zweckmässig erwiesen. Häufig genug gelang die Herstellung der Fistelöffnung mit diesem Instrument überhaupt nicht, oder aber sie gerieth zu klein, und die Thiere erlagen bei der Operation oder einige Zeit nachher, wenn das geronnene Blut die Oeffnung gänzlich verstopfte. Wir hatten dasselbe Resultat in den

Fällen, wo aus Versehen die Venen in zu geringer Ausdehnung durchschnitten wurden, 1 cm oder noch weniger. Im Ganzen ist es, wie später erklärt werden wird, vortheilhaft, die Oeffnung so gross als möglich zu machen. In der letzten Zeit machten wir die Oeffnungen mindestens $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ cm lang. Eine gewisse Anzahl Thiere erlag, weil die Venenwände mit der Nadel oder den Drahtenden der Scheere zerrissen wurden. Zuweilen gelang die Operation nicht, wenn die Enden sich von den Schneiden der Scheere loslösten, nachdem die obere Reihe der Nähte schon angelegt war. Im Allgemeinen war die mangelhafte Haltbarkeit der Verlöthung des Silberfadens mit der Scheere die schwache Seite unseres Instrumentes, und es ist nur zu wünschen, dass man eine bessere Verlöthungsart findet, sowohl für den Erfolg der Operation, als für die Ruhe des Operateurs.

Ein Unglück, das sich oft wiederholt, hat uns während der ganzen Dauer unserer Operationen verfolgt: 6 bis 7 Tage nach glücklich verlaufener Operation gingen die Ränder der Wunden von einander. Wenn dieser Vorfall sich während der Nacht vollzog, fanden wir unsere Thiere am Morgen gewöhnlich schon todt vor. Einige Male konnten wir noch Hülfe schaffen, indem wir sofort das Abdomen wieder zunähten. Hoffentlich gelingt es späteren Untersuchern, diesen wirklich ärgerlichen Misserfolg durch Anbringung und Anwendung einer anderen Vernähungsart zu beseitigen.

Wir haben uns nicht ohne Grund bei allen diesen Einzelheiten aufgehalten. Wir wollten den Leser von der Möglichkeit dieser Operation überzeugen und ihn vor Misserfolgen sichern, wie sie bei den ersten Operationen nicht selten waren. Wir glauben, dass die Physiologen sie für eine gewagte Operation halten; sonst ist es schwer zu verstehen, warum dieselbe, da sie doch allen Physiologen Europas durch die Arbeit des Herrn Dr. Stolnikow in Pflüger's Archiv bekannt war, während 10 Jahren nicht die Aufmerksamkeit auf sich gezogen hat und, soviel wir wissen, nicht wiederholt worden ist, ungeachtet des lebhaften wissenschaftlichen Interesses, welches sie darbietet.

Mit denjenigen Thieren, welche allen diesen Fährlichkeiten, welche wir beschrieben haben, glücklich entronnen waren, wurden später verschiedene Untersuchungen angestellt. Schon seit Beginn unserer Arbeiten lenkte sich unsere Aufmerksamkeit besonders auf die Erscheinungen nervöser Natur, welche sich bei den operirten Hunden zeigten. Ein beträchtlicher Theil der Thiere verändert plötzlich für kürzere oder längere Zeit seinen Charakter. Dieser Wechsel tritt entweder sofort nach der Operation ein, oder zeigt sich erst nach einiger Zeit: aus sanften und gehorsamen Thieren wurden böse und störrische. Diese Thatsache ist um so interessanter, als sie den bisher in den Laboratorien gemachten Erfahrungen widerspricht. Derjenige, der Operationen mit chronischen Folgezuständen an Hunden gemacht hat, weiss, bis zu welchem Grade diese Thiere gelehrig und zuthunlich werden. Einer unserer Hunde wurde in dieser Hinsicht besonders bemerkenswerth. Er hatte mehr als 6 Monate hindurch eine chronische Blasenfistel gehabt und hatte einem Doctor zu pharmakologischen Untersuchungen gedient, ausserdem häufig zu Vorlesungszwecken. Dem Thiere wird so schonend als möglich die Venenfisteloperation gemacht, welche der Hund ausserordentlich gut übersteht; am folgenden Tage war

der Hund schon auf und frass mit Appetit. Aber sein Benehmen war ganz verändert: er war so wüthend, dass er selbst den Wärter, der ihn für gewöhnlich fütterte, nicht in den Käfig liess, ja dass es unmöglich war, jeden Tag die Temperatur zu messen. Diese Reizbarkeit mildert sich häufig allmählich, das Thier wird wieder ruhig und sanft; aber oft ist diese Ruhe nur der Vorläufer eines neuen Wuthausbruchs: das Thier ist in rastloser Bewegung, es dreht sich im Käfig hin und her, steigt an den Wänden in die Höhe, benagt alles, was es findet, den Napf, die Stäbe des Käfigs, überschlägt sich, verfällt in klonische und tetanische Krämpfe, auch war im Allgemeinen eine grössere Athmungsfrequenz bemerkbar. Neben diesen Erscheinungen der Excitation beobachtet man auch Symptome von Depression. Wir haben oft beobachtet, dass der psychischen Erregung, ebenso dem Stadium der gesteigerten Erregbarkeit der motorischen Sphäre ein comatöser Zustand, eine allgemeine Schwäche voranging. Das Thier bleibt gewöhnlich liegen, erhebt sich nicht, wenn man es ruft, und schläft fast die ganze Zeit. Wenn man es zwingt, sich zu erheben, so schwankt es, die Hinterpfoten schleifen nach, das Thier fällt auf das Hintertheil, sich auf die Vorderpfoten stützend, die aber bald vorwärts rutschen. So lässt sich das Thier schliesslich mit dem ganzen Körper auf den Boden nieder. Wenn man es zwingt, zu gehen, tritt eine ganz deutliche Ataxie hervor; es hebt die Füsse viel höher, als es nöthig ist, lässt sie mit voller Kraft auf den Fussboden niederfallen, als ob es ihn schlagen wollte; die Pfoten legen sich über einander, u. s. w. Oft verharrt das Thier lange in einer sehr unbequemen Stellung. Wenn man ihm auch die Pfoten sanft entfernt oder kreuzt, das Thier bleibt in dieser Pose während ganzer Minuten. Noch ausgesprochener erscheint die Ataxie später in dem Excitationsstadium. Das Thier ist dann in fortwährender Bewegung, aber die Bewegungen sind ungeschickt und oft auffallend unschön. Gleichzeitig beobachtet man noch andere Störungen. Das Thier wird blind und verliert die Schmerzempfindung, während Bewusstsein und Gehör erhalten bleiben. Wenn der Wärter ruft, dreht sich der Hund herum und geht zu ihm; aber er stösst an Hindernisse, die ihm in den Weg kommen, und steht plötzlich still, die Schnauze an einen Tisch- oder Stuhlfuss drückend. Wenn plötzlich eine Thür geöffnet wird, flieht er aus dem Zimmer nach seinem Käfig, aber er rennt immer an Gegenstände, die ihm im Wege stehen, an, auch gegen andere Hunde. Wenn man den Finger dem Auge des Thieres nähert, ohne es zu berühren, zuckt es nicht mit demselben, wendet sich nicht um, reagirt nicht darauf; aber es zuckt, sobald man nahe dem Auge das Fell berührt. Anderentheils kann man sich mit dem ganzen Körpergewicht auf die Pfote oder den Schwanz des Hundes stellen, ohne dass das Thier irgend welchen Schmerzenslaut von sich giebt. Wenn man ihm eine Nadel tief in die Schnauze sticht und rasch eine Thür öffnet, so flüchtet das Thier aus dem Zimmer, ohne sich um die Nadel zu kümmern, von der es sich nicht einmal zu befreien sucht.

Es ist wahrscheinlich, dass das Thier während des Excitationsstadiums, das dieser Phase folgt, und besonders während der Periode der Convulsionen das Bewusstsein verliert, wenigstens zeigt es keine Spuren davon. Auf die Convulsionen folgt wieder ein comatöses Stadium. Dann liegt das Thier vollkommen regungslos da; von Zeit zu Zeit verfällt es in Zuckungen. Dieser Zustand geht in den Tod oder

auch öfters in völlige Heilung über. Hier sei eine interessante Thatsache eingeschaltet. Ein Thier, welches sich von einem derartigen Anfall erholt hat, ist einer Wiederholung desselben ausgesetzt, wenn es eine starke physische oder psychische Erregung erleidet. So wurde z. B. eine Hündin, welche nach einer solchen Krise, wie oben beschrieben, ganz und gar wieder hergestellt war, von neuem von Krämpfen befallen, nachdem man ihr ohne Erfolg einen Katheter in die Blase einzuführen versucht hatte.

Die Symptome dieser Anfälle treten häufig ganz plötzlich und unerwartet in die Erscheinung und folgen sich so rasch, dass man nur einen Theil des klinischen Bildes beobachten kann. Oft entwickelt sich die ganze Serie der Erscheinungen, welche wir beschrieben haben, nicht bis zu Ende. Die Krise hört in der ersten oder letzten Periode auf und es lässt sich eine völlige Wiederherstellung constatiren. Zuweilen beginnt der Anfall gleich mit den Symptomen des mittleren Stadiums, z. B. mit den Zuckungen. Bei mehreren Thieren wiederholten sich die Anfälle allwöchentlich. Frühestens traten sie am 10. Tage nach der Operation auf.

Einige unserer Hunde erlagen schon nach dem ersten Anfalle, der, wie gesagt, mitunter am 10. Tage nach der Operation kommt, gewöhnlich aber viel später, $1^1/_2$ Monate nachher. Mehrere Thiere überlebten die ersten, sehr starken, mit Convulsionen verbundenen Anfälle und erlagen erst den darauf folgenden. Andere endlich haben sich ganz erholt und lange in vollständigem Wohlbehagen gelebt: es waren die, welche von Anfang an nur schwache Anfälle gehabt hatten. Bei einigen waren die Krisen nur durch eine vorübergehende Schwäche, gefolgt von einem Zustande von Reizbarkeit, angedeutet.

Wir haben es uns zur Pflicht gemacht, jeden Tag die Temperatur bei unseren Versuchsthieren zu messen, sie zu wägen und ihren allgemeinen Ernährungszustand genau zu controliren. So konnten wir immer nach der Operation eine Abweichung der Körpertemperatur von der Norm (in recto gemessen) bei unseren Thieren feststellen. Bei allen unseren Hunden, ohne Ausnahme, sank die Temperatur am Tage der Operation und am darauf folgenden Tage; dann stieg sie um 0.5 bis 1^0 über die Norm und blieb auf dieser Höhe 10 bis 15 Tage lang constant. Was bedeutet nun diese Temperatursteigerung? Wir haben keine Erklärung dafür. War es eine leichte Reaction des Bauchfelles in Folge der Operation, oder war es eine Folge physiologischer Veränderungen, die durch die Ableitung des Blutes aus der Pfortader in die Hohlvene zu Stande gekommen waren? Die folgende Thatsache würde gegen die erste Annahme sprechen. Eine viel schwerere und länger dauernde Operation — die Isolirung des Fundus ventriculi nach Heidenhain —, die unter denselben Bedingungen ausgeführt wurde, bewirkt oft absolut keine Erhöhung der Temperatur. Man könnte diese Frage endgültig nur durch Controlversuche lösen, bei welchen man die Eck'sche Operation, aber ohne Fistel, machen würde. Auf alle Fälle kann man aus dem allgemeinen Zustande keine diesbezüglichen Schlüsse ziehen, und insbesondere sind die nervösen Erscheinungen, von denen oben die Rede war, nicht merklich mit dieser Temperaturerhöhung verknüpft.

Abgesehen von der Temperatur wurde auch das Gewicht der Thiere täglich controlirt. Einige nahmen progressiv ab (sie verloren mitunter 30 bis 40 Proc.

ihres ursprünglichen Gewichtes)[1]), bis der Tod während einer Krise eintrat. Andere, im Gegentheil, nahmen zu und erreichten nicht nur ihr ursprüngliches Gewicht, sondern überholten sogar dasselbe.

Mit der Abnahme des Körpergewichtes ging eine unzureichende Ernährung und eine Unregelmässigkeit der Thiere hinsichtlich ihres Appetites einher. Thiere, welche vor der Operation guten Appetit hatten und sehr gut ernährt waren (d. h. fett waren und ein glänzendes Fell hatten), fingen häufig nach der Operation an, die Fresslust zu verlieren. Sie frassen nicht ihre ganze Portion und verweigerten oft während eines ganzen Tages die Nahrungsaufnahme. Setzte man ihnen gemischte Nahrung vor (Milch, Weissbrot, rohes oder gekochtes Fleisch), so wählten sie nur eines, um dessen bald überdrüssig zu werden. Eine Eigenschaft unserer Thiere war also so zu sagen ein „launenhafter Appetit". Diejenigen, welche bis zum Ende mager blieben, begnügten sich gewöhnlich mit einem kleineren Quantum Futter. Andere, welche sich erholten, nahmen aufs Neue mit grossem Appetit jede Art von Nahrung und erlangten so ihr Körpergewicht wieder, ja sie wurden selbst fett. Während der Periode der unzureichenden Ernährung wurden in einigen Fällen Verdauungsstörungen beobachtet: Erbrechen, Diarrhoeen und Verstopfung, im Allgemeinen war dies aber sehr selten der Fall.

Von Anfang an beobachteten wir nun eine gewisse Beziehung zwischen der Nahrung der Thiere und den ersten Anfällen, wie wir weiter oben schon erwähnt haben. Die Thiere, die wenig frassen, waren früher oder später sehr heftigen Anfällen mit Convulsionen unterworfen, an denen sie beinahe alle zu Grunde gingen. Aber es ist sehr unwahrscheinlich, dass die Erschöpfung allein die Todesursache gewesen ist. Nach der Aussage des Wärters (der Hund war im Stall und nicht im Laboratorium) ist einer der Hunde ohne Convulsionen gestorben. Es ist aber möglich, dass der Anfall nur von kurzer Dauer war, und dass der Wärter nur das Ende gesehen hat, d. h. den comatösen Zustand. Die Hunde, welche nicht zu sehr abnahmen und nur von Zeit zu Zeit schlecht frassen, hatten meistens weniger starke Anfälle, welche mit dem comatösen Stadium anfingen und mit dem Excitationsstadium endeten.

Die weiteren Beobachtungen zeigten uns deutlichere Beziehungen zwischen der Art der Ernährung und den nervösen Symptomen der Thiere. Wir bemerkten öfters, dass, sobald einer unserer Hunde sich mit Gier auf das Fleisch stürzte, er diese Gefrässigkeit bald mit einem schwächeren oder stärkeren Anfall bezahlte, oft erfolgte selbst der Tod. Diejenigen, die solche Krisen überstanden, rührten lange kein Fleisch an, dagegen frassen sie stickstoffarme Nahrung mit Appetit und befanden sich im Allgemeinen wohl. Von diesem Gesichtspunkt aus könnten wir unsere Thiere in zwei Gruppen eintheilen. Die einen frassen oder verweigerten zeitweise Fleischnahrung. Nachdem der Genuss desselben Störungen ihres Wohlbefindens verursacht hatte, entsagten sie dem Fleisch während einiger Zeit. Aber in der Folge, nach gänzlicher Herstellung, konnten sie der erneuten Versuchung, Fleisch zu fressen,

[1]) So wog ein Hund vor der Operation 22.9 kg und 57 Tage danach nur 14.0 kg. Ein anderer ging von 30.1 kg auf 20.5 kg in 36 Tagen herab; und endlich hatte ein dritter, welcher ursprünglich 23.3 kg wog, nach 90 Tagen nur noch ein Körpergewicht von 13.9 kg.

nicht widerstehen und wurden dann von einem neuen Anfall ergriffen. Den anderen dagegen widerstand Fleisch gleich von den ersten Tagen an. Sie begnügten sich mit stickstoffarmer Nahrung und frassen nur wenig. Es war oft unmöglich, ihnen Fleisch beizubringen, sie zogen es vor, zu verhungern.

Diese Beziehung zwischen der Fleischnahrung und dem Auftreten der nervösen Anfälle wurde durch eine Reihe von Beobachtungen endgültig festgestellt. Wir führen hier einige an.

1. Braune Hündin [1]), 23.7 kg schwer, wurde den 23. Januar 1892 operirt; typische Operation der Venenfistel. Die Krise, die auf die Operation folgte, verlief normal. Während des Februar und der ersten Tage des März hatte die Hündin keine Anfälle. Sie verweigert Fleischnahrung vom ersten Tage der Operation an, Milch und Brot nimmt sie gern; ungeachtet einer progressiven Abnahme des Körpergewichtes (den 11. März wog sie nur 14.7 kg) zeichnet sie sich durch Beweglichkeit und Munterkeit aus. Am 11. März wird ihr durch Sonde in mehreren Portionen 900 ccm Milch beigebracht, mit 150 g Fleischpulver vermischt (von welchem Gemisch sie 400 g erbricht). Den 12. März lässt man sie in vier Portionen 1200 ccm Milch mit 200 g Fleischpulver schlucken. Man bemerkt, nachdem sie die dritte Portion verschluckt hat, eine Schwäche der Muskeln und eine Neigung zum Schlaf. Die Hündin zieht es vor, liegen zu bleiben; der Hintertheil schwankt, wenn man sie zum Aufstehen zwingt; sie bedient sich nur schwer ihrer hinteren Gliedmaassen. Ein Excitationsstadium tritt am Abend desselben Tages ein; sie dreht sich im Kreise, steigt an den Wänden in die Höhe, benagt mit Wuth die Gegenstände, die sie findet. Gleichzeitig wird sie blind. Am 13. März erhält die Hündin kein Fleischpulver. Die Blindheit, der unsichere und unregelmässige Gang, die Schwäche des Muskelsystems halten an. Auch fühlt das Thier augenscheinlich keinen Schmerz, wenn man es sehr stark auf den Schwanz oder die Pfoten tritt. Alle pathologischen Symptome vermindern sich am Abend desselben Tages und verschwinden nach drei Tagen gänzlich. Erst am 15. März frisst das Thier seine gewöhnliche Portion. In den folgenden Tagen wird es wieder so lebhaft und munter, wie vor dem Genuss des Fleischpulvers.

Am 30. März fingen wir wieder an, ihr Milch und Fleischpulver zu geben. Sie erhielt an diesem Tage 150 g Fleischpulver und 900 ccm Milch. Am gleichen Abend schon ist die Unregelmässigkeit der Bewegung bemerkbar, sowie eine ausgesprochene Schwäche in den hinteren Extremitäten. Am folgenden Tage bekommt sie 140 g Fleischpulver und 900 ccm Milch. Um 9 Uhr Abends zeigt sich das vollständige Bild des Anfalles (Ataxie, Excitation, Blindheit). Die Hündin läuft fortwährend umher, unter den Tisch, unter den Stuhl, stösst sich an verschiedene Gegenstände, zielt mit der Schnauze nach der Wand, schlägt lange mit dem Schwanz den Boden, nagt wüthend den Draht der elektrischen Lampe, den sie auf ihrem Wege findet, u. s. w. Am Morgen des 4. April findet man die Hündin in tiefem Schlaf, Respiration 60 bis 100, Puls 180 in der Minute; starke Speichelabsonderung, die Augäpfel sind sehr klein und nach unten gerichtet (Strabismus). Der Schlaf ist unterbrochen durch Erbrechen und krampfartige Zuckungen in verschiedenen Muskelgruppen. Die Dyspnoe wird immer deutlicher, der Puls wird schwach. Sie entleert dreimal sehr alkalischen Urin, viel Albumin enthaltend. Kurz darauf Tod. Die Leiche wird mit einer Lösung von Berliner Blau injicirt und dabei constatirt, dass nicht ein Tropfen aus dem Pfortadersystem in die Leber gelangen kann, und dass die Oeffnung zwischen beiden Venen gross ist.

2. Schwarzer Hund, 24.0 kg schwer; am 8. Juli 1892 typische Venenfisteloperation. Die Zeit nach der Operation verläuft normal. Am 23. Juli werden in den Magen 70 g Fleischpulver in 300 ccm Milch eingeführt. Eine zweite, gleichgrosse Portion frisst der Hund aus eigenem Antriebe. Die pathologischen Symptome erschienen am Abend: Schwäche, Neigung

[1]) Vergl. Hund Nr. 14 des chemischen Theiles.

zu Schlaf, das Thier bewegt den Kopf, die Augen sind trübe, Ataxie und endlich Verlust des Augenlichtes. Ausserdem Speichelabsonderung und Durst. Während des 24. und 25. Juli bekommt das Thier kein Fleischpulver, und die eben angeführten Symptome lassen nach; er wurde vom Laboratorium in seinen Stall übergeführt und mit Hafersuppe gefüttert. Am 10. August bemerkt man, dass das Thier wieder das Augenlicht verloren hat. Auf eingezogene Erkundigungen erfährt man, dass der Hund zufällig Suppe mit Fleisch erhalten hat. Die Blindheit schwindet rasch, sobald der Hund auf Hafersuppe gesetzt wird. Am 20. August giebt man ihm in drei Portionen 210 g Fleischpulver in 1000 ccm Milch, und es gelingt von Neuem, das typische Bild des Anfalles hervorzurufen. Diese Erscheinungen verschwinden, sobald man aufhört, ihm Fleischpulver zu geben. In der Folge mit Hafergrütze und wenig Fleisch ernährt, zeigt dieser Hund mehrmals starke Excitationskrisen (er bewegt sich heftig in seinem Käfig, benagt die Stäbe, wirft sich auf die Wärter). Man setzt ihn auf Milchnahrung, und die Vergiftungserscheinungen verschwinden gänzlich für lange Zeit.

Am 26. September erhält er wieder Fleisch (500 g) und Fleischpulver (175 g) in Milch. Am 27. September gelingt es nicht, ihm Milch mit Fleischpulver einzuflössen, das Thier schliesst energisch die Schnauze. Aber dessen ungeachtet stürzt es sich mit Gier auf Fleisch und verschluckt davon 1.785 kg während des 27. und 28. September. Am Morgen des letzteren Tages bemerkt man eine gewisse Aufgeregtheit (er bellt die Wärter an). Aus dem Käfig herausgelassen, läuft er unruhig hin und her, die Muskeln der hinteren Glieder sind schwach, beim Laufen macht sich Ataxie bemerkbar, aber das Auge ist noch normal. Ueberhaupt fühlt sich an diesem Tage der Hund noch wohl. In der Nacht erbricht er das Fleisch. Am 29. September um 10 Uhr Morgens läuft er gut und frisst mit Appetit 400 g Fleisch. Zwei Stunden darauf tritt das Excitationsstadium ein. Er versucht aus dem Käfig zu schlüpfen und bellt den Wärter an. Nach dreistündiger Excitation zeigen sich Symptome von Schwäche, er kann sich nicht aufrecht erhalten, er beginnt das Augenlicht zu verlieren. In der Nacht erbricht er Fleisch. Am 30. September um 6 Uhr Morgens hat er fast keinen Puls mehr, liegt in einem comatösen Zustande, der am Morgen um $7^1/_2$ Uhr mit dem Tode endet.

Wir haben also eine unzweifelhafte und sehr charakteristische Thatsache beobachtet: die Hunde, bei welchen das Blut des Verdauungscanals in Folge der Eck'schen Operation direct in die Hohlvene geht, ohne die Leber zu passiren, können kein Fleisch vertragen, ohne ernste Störungen des Nervensystems, die oft den Tod zur Folge haben, zu erleiden.

Wie schon gesagt, der Zustand, der auf die Operation folgt, ist durchaus nicht bei allen Hunden der gleiche: die einen erholen sich und kehren völlig zur Norm zurück, die anderen unterliegen heftigen Anfällen. Das ist nur so zu erklären, dass bei den einen die durch die Operation hervorgerufenen Störungen sich mit der Zeit ausgleichen, während sie bei den anderen lange, wenn nicht für immer persistiren. Die Rückkehr zur Norm konnte bedingt sein durch eine Entwickelung von Collateralbahnen, welche der Leber Blut zuführen. Das haben wir nun thatsächlich auch gefunden, wenn wir nach dem Tode Gelatine und Berliner Blau in die Pfortader einspritzten. Die Flüssigkeit wurde unter starkem Druck in die V. lienealis, in die mesenterica magna und in die V. pancreatico-duodenalis injicirt.

Um zu verhindern, dass die Injectionsflüssigkeit durch die Vena hepatica in die Leber dringe, wurde die Hohlvene zwischen der Einmündungsstelle dieser Venen und der Fistelöffnung unterbunden. Bei den Thieren, auf die das Fleisch keine schädliche Wirkung mehr ausübte, die anfingen, fett zu werden, und die sich in

nichts von den normalen Thieren unterschieden, liess sich die Leber leicht durch die Pfortader injiciren, während im Gegentheil bei Thieren, welche das typische Bild der nervösen Störungen gezeigt hatten, und welche den Anfällen erlegen waren, die Leber keine oder nur sehr wenig von der Farbflüssigkeit enthielt. Die Wiederherstellung der Blutcirculation durch die Leber mit Hülfe anderer Gefässe als den von Schiff[1]) seit lange bezeichneten (collaterale der Pfortader), war augenscheinlich in unseren Fällen zum Theil dem Zusammenhang der Leber mit verschiedenen Theilen der Intestina, des Mesenteriums und des Netzes zuzuschreiben. Aber wir haben diesen selben Zusammenhang auch bei Thieren gefunden, bei denen die Blutcirculation nicht durch die Collateralbahnen stattgefunden hatte. Man musste also die Ursache dieser Thatsache in der Art der Fistel suchen. Und thatsächlich haben wir uns durch Beobachtung der Fistelbildung bei mehreren Thieren überzeugt: 1. dass der Zweck der Operation, einen Zusammenhang zwischen beiden Venen herzustellen, vollständig erreicht war; die Ränder der Fistel waren vollständig ausgebildet, als ob diese Oeffnung eine natürliche wäre; 2. dass diese Oeffnung, wie es sich erwarten liess, bei allen Thieren durchaus nicht die gleiche Grösse hatte. Bei den Hunden, die sich von der Eck'schen Operation vollständig erholt hatten, war die Oeffnung sehr eng; man konnte kaum ein Glasstäbchen von 3 bis 4 mm im Durchmesser einführen, während man mit Leichtigkeit den kleinen Finger in die Fistel der Thiere stecken konnte, welche daran zu Grunde gegangen waren. Wir haben daraus geschlossen, dass in den Fällen, wo die Fistelöffnung sich verengert hatte, der erhöhte Druck in der Pfortader die Ursache des Collateralkreislaufes war.

Was bedeutet nun das charakteristische Phänomen, die auffallenden nervösen Symptome, die sich nach Genuss einer beträchtlichen Menge Fleisch einstellen? Folgerichtig gedacht, wäre die Antwort zunächst in den Arbeiten von Schröder und Minkowski zu suchen über die Rolle, welche die Leber in der Umwandlung der Producte des intermediären Stoffwechsels bei der Umwandlung des Albumins in seine Endproducte: den Harnstoff und die Harnsäure, spielt. Bei diesem Ideengang hätten uns also unsere Thiere das Bild einer Vergiftung gezeigt, verursacht durch die Producte des intermediären Stoffwechsels. Das Blut der Pfortader, mit diesen Körpern, und zwar vor Allem nach einer Fleischmahlzeit gesättigt, träte, anstatt die Leber zu passiren und hier seine toxische Wirkung zu verlieren, in den allgemeinen Blutkreislauf ein und gelangte bis zum Nervensystem, das dadurch in den pathologischen Zustand versetzt würde. Es ist sicher, dass man noch auf andere Weise diese charakteristischen Symptome erklären könnte: durch eine Störung im Verdauungscanal oder in den Functionen der Nieren u. s. w. Aber Dank dem Collectivcharakter unserer Arbeit und den Resultaten der Harnanalyse unserer Thiere (siehe den chemischen Theil dieser Arbeit) brauchten wir von Anfang an uns nicht mit allen diesen Möglichkeiten aufzuhalten und konnten unsere ganze Aufmerksamkeit der ersten Annahme zuwenden.

Die Harnanalyse unserer Hunde hat unter Anderem eine Eigenthümlichkeit dieser Thiere gezeigt: das Auftreten von Carbaminsäure im Harn, zuweilen in be-

---

[1]) Schweiz. Zeitschrift f. Heilkunde 1 (1862).

trächtlicher Menge. Wir gelangten daher zu folgender Annahme, die nun als Grundlage für unsere Untersuchungen diente. Sollte nicht die Carbaminsäure der Grundfactor des von uns beobachteten klinischen Bildes sein? Um diese Hypothese zu beweisen, haben wir eine ganze Reihe von Versuchen mit Carbaminsäure gemacht. Das carbaminsaure Natrium, dessen wir uns bei unseren Versuchen bedienten, wurde von M. Nencki aus kohlensaurem reinem Ammoniak nach der Vorschrift von M. Drechsel[1]) hergestellt. Man leitet ein trockenes Ammoniak und Kohlensäure in absoluten kalten Alkohol. Die teigige krystallinische Masse wird mit Alkohol in geschlossenem Rohr während 3 Stunden bei 110 bis 120° erhitzt. Das carbaminsaure Ammoniak, das in den Röhren in der Kälte auskrystallisirt, wird filtrirt und dann zwischen Fliesspapier getrocknet. Andererseits löst man metallisches Natrium in absolutem Alkohol auf und giebt eine äquivalente Menge davon zu der concentrirten ammoniakalischen Lösung von $NH_2CO_2NH_4$ zu. Die mit absolutem Alkohol gefällten Krystalle werden mit ammoniakhaltigem Alkohol gewaschen und mehrere Male durch Fliesspapier gezogen. Für jeden Versuch wurde eine frische Portion dieses Salzes dargestellt. Das carbaminsaure Calcium $2(NH_2CO_2)_2Ca + H_2O$ wurde gleichfalls nach der Methode von Drechsel[2]) dargestellt. In eine wässerige Ammoniaklösung wurde Kohlensäure geleitet, zu der man von Zeit zu Zeit frisch bereitetes Kalkwasser zufügte.

Zur Einführung in die Blutbahn oder in den Magen benutzten wir eine 5 proc. Lösung von carbaminsaurem Natrium oder Calcium. Die Versuche wurden ausschliesslich an Hunden angestellt. Nachdem alles für die Injection vorbereitet war, wurde das carbaminsaure Salz in $^1/_2$ proc. Kochsalzlösung aufgelöst. Mit Rücksicht auf die rasche Zersetzung der gelösten Carbaminsäure konnte die eingeführte Menge nur approximativ sein. Auch hängt im gegenwärtigen Falle der Erfolg mehr als bei jeder anderen chemischen Verbindung von der Schnelligkeit ab, mit der die Injection gemacht wird, was leicht begreiflich ist, wenn man bedenkt, mit welcher Schnelligkeit sich eben die Carbaminsäure zersetzt. Auch das lebhafteste, muntere Thier legt sich sofort nach einer Einspritzung von Carbaminsäure nieder. Anfangs hält es den Kopf noch gerade, bald aber fängt es an ihn hängen zu lassen; wenn der Kopf sich rasch neigt, belebt das Thier sich für einen Moment, es erhebt den Kopf, lässt ihn aber rasch wieder sinken. Das Thier reckt und dehnt sich, gleichsam als wollte es gegen den Schlaf ankämpfen, und endlich legt es sich ganz und gar, senkt den Kopf auf die Vorderpfoten und schliesst die Augen. Aber der Schlaf ist leicht; das Thier hebt den Kopf oft, ändert die Lage, erwacht beim geringsten Geräusch, beim leisesten Zuruf. Ausser der Neigung zum Schlaf bemerkt man auch eine gewisse Ataxie beim Laufen. Das Thier bedient sich seiner Gliedmaassen, namentlich der hinteren, mit geringerer Leichtigkeit als gewöhnlich, die Füsse gleiten, verfangen sich u. s. w. Diese Wirkung tritt nach einer Dose von unfähr 0.25 g auf 1 kg Körpergewicht hervor[3]). Häufig erbrechen die Thiere sofort nach Einspritzung einer solchen Dose, lassen Harn und entleeren unter Tenesmus die Fäces. Nach

[1]) Drechsel, Journ. f. prakt. Chem. **15**, 197, Jahrg. 1877.
[2]) l. c. S. 188.
[3]) Noch genauer 0.244 g auf 1 kg.

einer etwas grösseren Dose, 0.3 g auf 1 kg, ist der Zustand des Thieres ein ganz anderer. Jetzt ist das Thier beständig in Bewegung, gleichsam einem inneren Impulse gehorchend. Dabei sind seine Bewegungen ungeschickt, es tritt mit den Pfoten über einander. Der Hund verliert die Sehkraft, denn er geht den Wänden nach und kauert sich in die Winkel. Das Thier hat noch Bewusstsein von dem, was es thut: es versucht durch eine geräuschvoll geöffnete Thüre zu entwischen. In einzelnen Fällen erreicht die Erregung des Thieres den höchsten Grad. Es läuft von einem Ende des Zimmers zum anderen, bellt, wirft sich auf die Fenster, hält plötzlich wie erschrocken mitten in den plötzlichsten Bewegungen an und bleibt lange in der Stellung, in der es so zu sagen überrascht wurde: ein sehr interessanter Fall von plötzlich eintretender Katalepsie. Freilich ist diese Erscheinung ziemlich selten, meist bemächtigt sich dieser kataleptische Zustand erst allmählich des Thieres. Dann kann man ihm alle erdenklichen Stellungen geben, es verbleibt darin und ist unempfindlich gegen andere Reize. Man kann es laut anrufen, ihm drohende Bewegungen machen, es berühren, zwicken, ohne den mindesten Effect zu erreichen. Nach 10, 15 bis 20 Minuten fängt es an, sich zu bewegen und hört auf den Zuruf. Nach weiteren 5 Minuten scheint es ganz hergestellt, aber eben nur scheinbar. Es hat noch für lange Zeit die Schmerzempfindung verloren. Eine noch stärkere Dosis, 0.6 g auf 1 kg, ruft leichte Convulsionen hervor. Das Thier erleidet einen richtigen Anfall von Epilepsie: Krämpfe, reichliche Speichelabsonderung, Erweiterung der Augäpfel. In schweren Vergiftungsfällen durch noch grössere Dosen beobachtet man Tetanus, gefolgt von Opisthotonus und Respirationsstillstand. In solchen Fällen stirbt das Thier entweder plötzlich oder langsam in Folge der Sistirung der Athmung, während das Herz noch fortschlägt. Treten die epileptischen Erscheinungen in den Vordergrund, so erholt sich meistens das Thier, kehrt zur Norm zurück, nachdem es vorher noch einen Zustand von Katalepsie durchgemacht hat. Wenn man das complicirte Bild der durch Carbaminsäure hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen geben wollte, wären fünf auf einander folgende Phasen zu unterscheiden: 1. Somnolenz mit Ataxie; 2. Excitation mit Ataxie und Verlust des Gesichtssinnes; 3. Katalepsie mit Anästhesie; 4. Epilepsie, und 5. Tetanus.

In den Magen führten wir vor der Carbaminsäure eine Lösung von kohlensaurem Natron ein, um zu verhindern, dass die Carbaminsäure frei werde. Dabei musste das Thier nüchtern sein. Diese Versuche ergaben ein vollkommen negatives Resultat. Es gelang uns nicht ein einziges Mal, einen normalen Hund mit Carbaminsäure zu vergiften, mochten wir ihm geben, so viel wir wollten. Viele Hunde hatten nicht einmal Erbrechen, trotz der reizenden Eigenschaften unserer Salzlösung. Im Allgemeinen erfolgt aber Erbrechen; aber man konnte das nicht als ein nervöses Symptom einer allgemeinen Vergiftung betrachten, denn es trat unmittelbar nach Eingabe der Carbaminsäure ein. Es war uns natürlich nach diesen negativen Resultaten ausserordentlich interessant, denselben Versuch anzustellen, also Carbaminsäure in den Magen einzuführen bei solchen Hunden, die die Eck'sche Operation durchgemacht hatten. Die Verschiedenheit der Resultate war überraschend. Minime Dosen, ungefähr solche, wie man sie in das Blut injicirt hatte, waren hinreichend, um die Hunde vom Magen aus zu vergiften. Was aber vor Allem bemerkenswerth

war, war das, dass das Vergiftungsbild genau dem nach Fleischgenuss entsprach: zuerst Somnolenz und Ataxie, dann Excitation, Verlust des Augenlichtes und Anästhesie. Wir geben als Beispiel einen Versuch, den wir mit der braunen, oben erwähnten Hündin angestellt haben (s. S. 300). Um 3 Uhr 45 Min. Nachmittags wurde in den Magen des Thieres 4.75 g carbaminsaures Natrium eingeführt, nach vorheriger Neutralisirung des Magensaftes mit einer Lösung von kohlensaurem Natron. Nach 10 Minuten erbrach das Thier plötzlich eine flüssige Masse, dabei zeigen sich heftige convulsivische Bewegungen. Um 4 Uhr 17 Min. wird die erbrochene Flüssigkeit wieder in den Magen eingeführt. Bald darauf lässt sich eine Schwäche in den hinteren Gliedmaassen constatiren; das Thier hat unsicheren Gang, die Füsse verfangen sich in einander. Um 4 Uhr 51 Min. werden wieder 4.75 g Carbaminsäure gegeben. Um 5 Uhr 20 Min. werden Symptome von Blindheit und Analgesie bemerkbar. Das Thier ist aufgeregt, geht geradeaus, stösst sich an der Mauer und an auf seinem Wege befindlichen Gegenständen, drückt die Schnauze gegen die Wand und wedelt lange mit dem Schwanze. Dann treten starke Erregungserscheinungen ein: der Hund heult, kläfft und bellt. Die Augäpfel sind erweitert, reagiren noch auf Lichteinfall, aber das Thier zuckt nicht mit den Wimpern, wenn man den Finger nähert. Puls 110, Respiration 72. Um 6 Uhr Abends heult und bellt der Hund nicht mehr, die Amaurose und Ataxie halten an, ebenso die Analgesie. Um 6 Uhr 35 Min. bleibt der Hund ruhig liegen; auf die Beine gestellt, geht er gut, das Augenlicht ist wieder hergestellt.

In den Versuchen, die bis jetzt mit den operirten Hunden angestellt wurden, steigerten sich die Anfälle nicht bis zu Convulsionen, weil wir die Dosen von Carbaminsäure nicht erhöhen wollten, aus Furcht, unsere Hunde zu verlieren.

Das Gesammtresultat unserer Versuche berechtigt uns nach unserer Ansicht, sowohl durch das klinische Bild, das die Thiere darboten, als auch durch die pharmakologischen Untersuchungen, vollkommen dazu, nur ein und dasselbe toxische Agens anzuerkennen. Alle Symptome, welche wir in dem klinischen Bilde beobachteten, wiederholten sich nach Einspritzung der carbaminsauren Salze in die Blutbahn, und umgekehrt finden sich alle durch dieses Salz hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen, ausser dem kataleptischen Zustande, im klinischen Bilde wieder. Wir geben auch nicht die Hoffnung auf, auch in diesem letzten Punkte noch die Analogie vervollständigen zu können. Die Symptome, die nach einer erzwungenen Fleischzufuhr resultiren, entwickeln sich nur langsam. So ist es uns nicht ein einziges Mal gelungen, den Verlauf der Symptome von Anfang bis zum Ende zu verfolgen, da die Nacht unsere Beobachtungen unterbrach. Wir sahen entweder nur den Beginn: die Somnolenz, die Ataxie und die Excitation — oder nur den Schluss und das zweite comatöse Stadium. Gerade die Phase, wo die Katalepsie beginnt, entzog sich bis jetzt unseren Beobachtungen. Wir fanden indessen in unseren Versuchen bei den operirten Hunden Anzeichen von oder vielmehr Neigung zur Katalepsie. Es gelang uns zu beobachten, dass ein Thier im comatösen Zustande, das keine freiwilligen Bewegungen machte, wenn es aufgestellt wurde, nicht so leicht und nicht so schnell umfiel, wie man es in einem solchen Zustande erwarten dürfte; man bemerkt eine gewisse Starrheit im Muskelsystem.

Wir glaubten uns also berechtigt, anzunehmen, dass in allen unseren Versuchen wir es nur mit einem Agens zu thun hatten. Es ist klar, dass, um sich davon zu überzeugen, man nicht nur die Gesammtbilder vergleichen müsste, sondern auch die durch specielle Functionen hervorgerufenen Modificationen (Blutdruck, Puls, Temperatur u. s. w.) der Thiere, welche in Folge der Eck'schen Operation und pharmakologischen Versuche mit Carbaminsäure pathologische Symptome des Nervensystems zeigten. Wir hoffen diese Lücke in unseren späteren Versuchen ausfüllen zu können.

Die vergleichenden Beobachtungen über die Zufuhr von Carbaminsäure in den Magen normaler und operirter Thiere zeigen deutlich, dass dieses Agens durch die Leber neutralisirt wird, indem sie es in einen indifferenten Körper umwandelt. Wir haben uns bis jetzt absichtlich des unbestimmten Ausdrucks „wirksames Agens" bedient. Wir haben ein Salz der Carbaminsäure eingeführt; aber man weiss, dass dieses Salz sich sehr schnell zersetzt, und somit ist von vornherein nicht abzusehen, ob es sich hier nicht um die Wirkung des Zersetzungsproductes, d. h. des Ammoniaksalzes handelt. Nun ist aber zu bedenken, dass Drechsel und Abel die Gegenwart von Carbaminsäure im Blute und im Harn constatirt haben.

Nencki und Hahn, unsere Mitarbeiter, konnten die Angaben dieser Autoren vollständig bestätigen; wir haben unsererseits uns überzeugen können, dass die Carbaminsäure im Blute ganz anders wirkt, als die Ammoniaksalze. Wir sind zu dieser Ueberzeugung gekommen dadurch, dass wir das Bild der durch Carbaminsäure verursachten Vergiftung mit dem der durch Einwirkung von Ammoniak und seinen Salzen hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen verglichen. Als Unterlage für diese Vergleiche dienten uns nicht nur die Beobachtungen verschiedener anderer Autoren, sondern auch unsere eigenen, mehrfach wiederholten Versuche. Die Hauptwirkung des Ammoniaks ist, wie bekannt, die Erhöhung der Reflexerregbarkeit, die sofort eintritt und bis zum Ende der Einwirkung fortdauert. Mehrere Autoren (Heidenhain und Spiegelberg)[1]) weisen auf den deprimirten und comatösen Zustand der mit Ammoniak vergifteten Thiere hin. Aber wir möchten darauf aufmerksam machen, 1. dass diese beiden Erscheinungen erst nach den Convulsionen auftreten, und 2., dass nach Drechsel[2]) das käufliche Ammoniak immer etwas Carbaminsäure enthält. Wenn aber die Carbaminsäure unter Anderem die Wirkung hat, die Reflexerregbarkeit zu steigern, so ist das nur für eine ganz kurze Zeit der Fall; und ausserdem kann man sich fragen, ob diese erhöhte Erregbarkeit nicht von dem ursprünglich in der Carbaminsäure enthaltenen Ammoniak herrühre, oder von dem durch die theilweise Zersetzung dieser Säure gebildeten Ammoniak. Wie dem auch sei, die längste und charakteristischste Vergiftungsperiode in unserem Falle ist sicher die, welche einen gegentheiligen Charakter zeigt, nämlich den, dass das Thier nicht mehr reagirt, wie das in dem kataleptischen Zustande der Fall ist, oder dass die Erscheinungen einer höchst eigenartigen Anästhesie auftreten, das Thier aber im Uebrigen normal bleibt, wie das auch nach der kataleptischen Periode zu sein pflegt. Dieses eigenthümliche Verhalten kann nicht das Resultat der dieser Phase voraus-

[1]) Archiv f. Gynäkologie, M. I, 1870.
[2]) Journ. f. prakt. Chem. **16**, 172.

gegangenen heftigen Erregung des Nervensystems sein, denn dasselbe zeigt sich oft ohne dass Convulsionen vorausgehen, nach einem nur kurzen Excitationsstadium, welches sich lediglich durch Erregen und Bellen kundgiebt.

Ausserdem bemerkt man in dem durch Ammoniak erzeugten Vergiftungsbilde weder das comatöse Stadium, noch die Katalepsie, noch die Amaurose; alles Thatsachen, die zu einer Differenz zwischen der Wirkung der Carbaminsäure und der des Ammoniaks führen. Wir finden noch einen Beweis für die Einwirkung der Carbaminsäure — d. h. der nicht zersetzten Säure — in der charakteristischen Uebereinstimmung ihrer Wirkungen mit denen des Urethans: 1. der Anfang der Wirkungen ist der gleiche in beiden Fällen, die gleiche Schlafsucht, der gleiche unsichere Gang; 2. und was noch viel wichtiger ist — der kataleptische Zustand, den man so selten in den pharmakologischen Versuchen beobachtet und der den Beweis einer frappanten Aehnlichkeit zwischen beiden Körpern bringt.

Nach alledem, was wir oben dargelegt haben, halten wir uns zu der Annahme berechtigt, dass der Leber unter Anderem die Function obliegt, unter normalen Verhältnissen die im Blute angesammelte Carbaminsäure in Harnstoff umzuwandeln.

Noch einige ergänzende Bemerkungen erübrigen uns. Wir haben auch einzelne Versuche gemacht, bei denen wir so viel als irgend möglich die Leber gänzlich ausser Function setzten. Dieses Ziel erreichten wir einmal dadurch, dass wir so viel als irgend möglich von dem Lebergewebe exstirpirten, oder aber die Blutzufuhr ganz absperrten. In beiden Fällen haben wir vorher durch die Eck'sche Operation das Blut der Pfortader in die Hohlvene übergeleitet. Gewöhnlich wurden beide Operationen gleichzeitig, manchmal aber auch getrennt vorgenommen. Wir beobachteten in Folge der Leberexstirpation dieselben Erscheinungen wie andere Autoren. Die Exstirpation erfolgte Lappen für Lappen nach Anlegung der Eck'schen Fistel und Unterbindung der Leberarterie. Jeder Lappen wurde besonders unterbunden und dann herausgeschnitten. Nachdem die Stumpfe der abgeschnittenen Lappen mit den Fingern zerdrückt waren, wurde eine neue Ligatur noch näher der Wand der unteren Hohlvene angelegt, die an verschiedenen Theilen der Leber adhärirt. Es gelang uns so, in den glücklichsten Fällen $^{11}/_{12}$ der Leber zu entfernen; das letzte Zwölftel, gehörig zerquetscht, bildete den Theil des Lebergewebes, welcher eben an der Venenwand adhärirt. Im Allgemeinen gelang es uns, nur $^{5}/_{6}$ oder $^{7}/_{8}$ der ganzen Leber zu entfernen. Im besten Falle überlebten die Thiere die Operation sechs Stunden, gewöhnlich nur zwei bis drei. Der Zustand des Thieres nach der Operation war charakteristisch. Ein Factum trat besonders gegen Ende dieser Operation hervor, während der Prüfung der einzelnen Lappenstümpfe, der Anlegung neuer Ligaturen u. s. w. Vor der Exstirpation muss häufig Chloroform gegeben werden, weil das Thier sich noch bewegt. Aber in dem Maasse, als die Leberlappen entfernt werden, beruhigt sich auch das Thier ohne Zufuhr von Chloroform, bis es endlich beim Schluss der Operation in einen so tiefen Schlaf verfällt, dass kein Reiz — wie beim Stechen, Rufen, Schlagen — eine Reaction bewirkt. Bald darauf bemerkt man, dass bei dem Thiere, das bis dahin unbeweglich wie eine Leiche dalag, einzelne Muskeln zu zucken anfangen. Diese Zuckungen werden

häufiger, bemächtigen sich in steter Ausdehnung einer Muskelgruppe, bis endlich das Thier von heftigem Tetanus befallen wird. Dann kommt die Erschöpfung, die Athmung ist sistirt, und das Thier stirbt; das Herz schlägt noch während einiger Minuten fort, nachdem die Athmung schon aufgehört hat.

Wir haben ferner eine förmliche Anämie der Leber dadurch herbeizuführen gesucht, dass wir die Eck'sche Operation mit Unterbindung der Arterien combinirten. Wir unterbanden die Arteria hepatica dicht an ihrer Abzweigung von der Arteria coeliaca, aber nicht die kleinen Leberarterien. Diese Operation wurde gewählt, weil bei der grossen Zahl dieser Arterien es zu schwierig gewesen wäre, sie alle zu unterbinden. So ausgeführt, kann diese Operation in Hinsicht auf das Trauma als der Eck'schen Operation gleich betrachtet werden; aber die Resultate sind verschieden. Nach der Operation erwacht das Thier sehr bald aus der Narkose, es läuft ziemlich gut, es kommt herbei, wenn man es ruft. Aber schon nach einigen Stunden bemerkt man Depressionserscheinungen, und das Thier verfällt in Coma, in dem es zu Grunde geht; öfters gehen noch Convulsionen voraus. Die längste Lebensdauer, die wir nach dieser Operation constatiren konnten, betrug 40 Stunden. In den meisten Fällen tritt der Tod nach 12 bis 15 Stunden ein. Im Allgemeinen erinnerte der Zustand dieser Hunde an die Erscheinungen, welche nach Minkowski die Gänse nach der Leberexstirpation darbieten [1]).

Endlich haben wir noch versucht, die Functionen der Leber durch eine Operation zu beschränken, die so zu sagen die Mitte hält zwischen der Eck'schen Operation und der mit der Unterbindung der Arterie combinirten. Zu diesem Zweck wurde um die Leberarterie, nachdem die Eck'sche Operation ausgeführt war, eine Klemme mit langem Griff gelegt, die aus der Wunde hervorragte; die Wunde wurde bis auf eine kleine Oeffnung für den Griff des Instrumentes zugenäht. Bei dem längsten Versuch hat die Klemme an der Arterie nur zwei Stunden gelegen. Aber alle diese Versuche haben nur wenig Unterschiede mit der Eck'schen Operation gezeigt. Es schien uns nur mehrmals, als ob die Thiere mehrere Tage schwach und schläfrig waren, Erscheinungen, welche man in dem Maasse nach der Eck'schen Operation nicht beobachtet.

Die pathologisch-anatomische Untersuchung der operirten Thiere wurde von Herrn Dr. N. Uskow, Chef der pathologisch-anatomischen Abtheilung unseres Institutes, ausgeführt; aus äusseren Gründen ist sie bis heute noch nicht beendet. Herr Uskow hat uns aber ermächtigt, Folgendes schon jetzt zu veröffentlichen.

Die Leber unserer Hunde zeigte im Allgemeinen verschiedene Grade von einfacher Atrophie und in einigen Fällen eine starke Verfettung. In den Nieren bemerkt

[1]) Nach der Ansicht vieler Autoren ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass nach Unterbindung der Leberarterie eine retrograde Blutcirculation in den Leberarterien durch den duodenalen Ast der Leberarterie stattfindet. Eine solche Möglichkeit ist allerdings beinahe unbestreitbar vorhanden. Nichtsdestoweniger beweisen die Resultate unserer Untersuchungen (der Tod des Thieres, die Gangraena humida der Leber, die wir bei der Autopsie fanden) deutlich die völlige Anämie der Leber. Man könnte, wie uns scheint, diese Widersprüche durch die Annahme lösen, dass sich der bei der Unterbindung in der Arterie gebildete Thrombus bis dahin erstreckt, wo die kleinen Arterien anfangen.

man eine mehr oder weniger ausgesprochene trübe Schwellung, die sich zuweilen über das ganze Organ erstreckt, mitunter auch nur auf einzelne Theile desselben. In einigen Fällen sind die Harnwege der ganzen Niere mit kleinen hyalinen Kügelchen angefüllt.

Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen haben keine so genauen Resultate ergeben, als dass die verschiedenen Grade der pathologisch-anatomischen Befunde auf die im Leben beobachteten Erscheinungen bezogen werden könnten.

Das Zustandekommen der in der Leber gefundenen pathologisch-anatomischen Veränderungen zu erklären, ist nicht schwer. Die Eck'sche Operation schränkt augenscheinlich die Functionen der Leber ein, was naturgemäss zu Atrophie des Organs führt. Ganz anders verhält es sich mit den Nieren. Hier kann man mehrere Hypothesen aufstellen. Einerseits kann man annehmen, dass das Gewebe der Nieren durch die im Blute in gesteigertem Maasse angesammelten Stoffwechselproducte eine anormale Reizung erleidet; andererseits darf man nicht ausser Acht lassen, dass die Eck'sche Operation eine gewisse Stauung in der Nierenvene und demgemäss einen pathologischen Process in dem Organ erzeugen kann.

Unsere sonstigen Beobachtungen lassen die erste Hypothese über den Ursprung des pathologischen Processes als die wahrscheinlichere erscheinen. Nach der Eck-schen Operation haben wir niemals eine Verminderung der Harnmenge bei den Hunden beobachtet; aber bei den mit Fleisch vergifteten Hunden beobachteten wir eine Harnretention, die eine Störung in den Nieren bewies. Es sei noch bemerkt, dass der Harn dieser letzteren Hunde Eiweiss enthielt, während sonst der Harn während ziemlich langer Zeit nach der Eck'schen Operation kein Albumin enthielt, bis eben zum Tage der Vergiftung durch Fleisch. Diesen Punkt hoffen wir durch weitere Versuche aufklären zu können, bei denen die Fistel zwischen die Pfortader und die untere Hohlvene angelegt, aber nicht die Pfortader, sondern die untere Hohlvene unterbunden werden soll.

Zum Schluss lenken wir die Aufmerksamkeit auf die schlagende Aehnlichkeit, welche zwischen dem klinischen Bilde, das unsere Thiere darboten, und dem der Urämie beim Menschen besteht. Beinahe alle Erscheinungen der Urämie finden sich bei unseren Thieren wieder. Daher erscheint der Gedanke naheliegend: Sollte die Carbaminsäure nicht auch die Ursache der Urämie beim Menschen sein?

II. Chemischer Theil von M. Hahn und M. Nencki.

Die in dem physiologischen Theile dieser Arbeit beschriebene Operationsmethode bot der chemischen Untersuchung sehr verschiedene und sehr complicirte Probleme dar. Mit Rücksicht auf die histologische Structur der Leber, ihr Gefässsystem und das, was wir von ihren physiologischen Functionen wissen, war es wahrscheinlich, dass eine solche Operation in irgend welcher Weise den allgemeinen Stoffwechsel im Organismus der Thiere beeinflussen musste. Die Menge der im Harn der Thiere enthaltenen organischen Producte vor und nach der Operation, sowie der Nachweis pathologischer Producte brachten uns keine Aufklärung, die uns etwa das Programm für unsere chemischen Untersuchungen vorgeschrieben hätte. Erst als wir das Auf-

treten von Carbaminsäure im Harn der operirten Thiere constatirten, erhielten wir Aufklärung über den gesammten, sich allmählich ausbildenden pathologischen Vorgang. Leider ist es uns nicht geglückt, Versuche an Hunden im Stickstoffgleichgewicht zu machen, bei denen also die Gesammtmenge des mit der Nahrung absorbirten Stickstoffs sich in Harn und Fäces wiederfand; denn die zwei einzigen Hunde, die diese Bedingung erfüllten, starben sofort nach der Operation.

Der Harn[1]) der nach Eck'scher Methode operirten Hunde unterschied sich sehr wenig von dem eines normalen Thieres. Nur in einem Falle wurde der vor der Operation saure Harn sofort hinterher alkalisch, in anderen Fällen haben wir das Gegentheil beobachtet, d. h. eine alkalische Reaction vor und saure Reaction nach der Operation. Erst wenn in Folge der Operation Vergiftungserscheinungen eintraten und das Thier dem Verenden nahe war, wurde die Reaction regelmässig alkalisch. Man konnte in der Mehrzahl der Fälle beobachten, dass der Harn keine Spur von Fermentation zeigte und, doch mit Essigsäure oder Milchsäure angesäuert, Gasblasen in beträchtlicher Menge entwickelte.

Wir fanden weder Eiweiss, noch Zucker oder Albumosen und keine Vermehrung von Hippursäure und Kreatinin. Der sofort nach der Operation gelassene Harn enthielt fast immer Bilirubin und Urobilin. Wir haben in unseren zahlreichen Analysen niemals Oxybuttersäure und Milchsäure gefunden, deren Vorkommen im Harne der Diabetiker und von Gänsen, denen die Leber exstirpirt war, constatirt worden ist. Das Resultat der Urinuntersuchung war etwas verschieden, wenn die Eck'sche Operation mit der Unterbindung der Leberarterie combinirt wurde: die Reaction des Harns war alsdann beständig alkalisch, und ausserdem enthielt der Harn beträchtliche Mengen von Eiweiss und Hämoglobin. Ebenso fanden sich darin auch Gallenpigmente, wie Urobilin, wenn die Gallenblase nicht während der Operation entleert wurde. Der von den Hunden gelassene Harn, an welchen diese Doppeloperation vorgenommen war, enthielt weder Zucker, noch Oxybuttersäure, noch Milchsäure.

Unter den stickstoffhaltigen Producten des Harns bot die Menge des ausgeschiedenen Harnstoffs natürlich das meiste Interesse dar.

Die Versuche von W. Schröder haben gezeigt, dass die Leber an der Harnstoffbildung Theil nimmt. Uns erschien es nun interessant, in corpore vivo zu beweisen, was Schröder nur an einer frisch exstirpirten überlebenden Leber zeigen konnte. Ein positives Resultat war von vornherein nur in den Fällen zu erwarten wo die Leber vollständig isolirt, d. h. in den Fällen, wo die Eck'sche Operation mit der Unterbindung der Leberarterie combinirt wurde.

Wir werden aber weiter unten sehen, dass die Eck'sche Operation allein schon einen, obgleich schwachen Einfluss auf die Harnstoffausscheidung hat. Ganz exact würde man diese Verminderung der Harnstoffausscheidung nur bei Hunden im Stickstoffgleichgewicht zeigen können, indem man den Stickstoffgehalt des Harnstoffs mit dem Totalstickstoff vergleicht; ausserdem müsste auch das Blut analysirt

[1]) Die operirten Thiere wurden in Käfigen gehalten, die das Sammeln der täglichen Harnmenge ermöglichten. Zum Theil wurden die Tagesmengen auch durch Katheterisiren abgegrenzt.

werden. Alle nach dieser Richtung hin angestellten Versuche haben uns noch kein befriedigendes Resultat ergeben. Dagegen lieferte uns die Harnanalyse der Hunde mit Eck'scher Operation und Unterbindung der Leberarterie genügend klare Ergebnisse.

Wir haben Harnstoffbestimmungen bald nur nach der Operation, bald vor und nachher gemacht, meistentheils nach der Knopp-Hüfner'schen Methode. Wir waren uns dabei wohl bewusst, dass diese Methode, welche wir zu Beginn unserer Arbeiten anwendeten, für diesen speciellen Fall nicht die beste ist, denn es wurde dabei nicht nur der Harnstoff, sondern auch das Ammoniak bestimmt. Gedrängt durch die Menge der vorzunehmenden Analysen, war es uns im Anfang unmöglich, eine andere Methode anzuwenden. Wir begnügten uns mit derselben, nachdem wir als Resultat eine Harnstoffverminderung constatirt hatten, in dem Bewusstsein, dass diese Methode unsere Resultate nur verschlechtern, nicht aber besser erscheinen lassen konnte.

Eine starke Verminderung der Harnstoffausscheidung haben wir namentlich bei einem Hunde beobachtet, bei dem die Eck'sche Venenfistel angelegt und ausserdem $^7/_8$ der Leber exstirpirt war.

Hund Nr. 1. Lebt sechs Stunden nach der Operation. Nach derselben kein Harn. Nach dem Tode aus der Blase 238 ccm Harn entnommen.

Spec. Gewicht	1.018
Reaction	alkalisch
Harnmenge	238 ccm.

Erhalten 0.8211 g Harnstoff in sechs Stunden, also 0.345 Proc.

Da alle unsere Hunde die gleiche Nahrung erhielten, ist die Verminderung der Harnstoffausscheidung nach der Operation leicht zu constatiren, wenn man sie mit der unserer normalen Thiere vergleicht, welche mindestens 15.0 g Harnstoff per Tag ausschieden.

Die folgenden Resultate beziehen sich auch auf Hunde, in denen die Eck'sche Venenfistel angelegt und ausserdem die Leberarterie unterbunden war.

Hund Nr. 3.

Gewicht	22 kg
Ueberlebt die Operation	$16^1/_2$ Stunden
Harnmenge (aus der Blase entnommen)	48 ccm
Reaction	alkalisch
Harnstoff in $16^1/_2$ Stunden	0.283 g.

Das Thier stirbt während des comatösen Zustandes.

Hund Nr. 4.

Gewicht	20.4 kg
Ueberlebt die Operation	$13^1/_4$ Stunden.

Harnstoff:

a) Vor der Operation 4.51 Proc. (die täglich ausgeschiedene Menge ist unbekannt).

b) Nach der Operation 0.816 Proc. oder 2.57 g in $13^1/_4$ Stunden.

Das Thier stirbt unter tetanischen und klonischen Krämpfen.

Hund Nr. 11.

Gewicht . . . . 21.3 kg
Ueberlebt die Operation . . . . 14 Stunden.

Harnstoff:

a) Vor der Operation:

1. Tag = 5.57 Proc. oder 16.696 g in 24 Stunden
2. „ = 4.45 „ „ 20.948 g „ 24 „

b) Nach der Operation:

1.25 Proc. oder 3.13 g in 14 Stunden.

Bei Hunden, bei denen die Leberarterie nicht ganz unterbunden wurde, war nur eine kaum bemerkbare Verminderung der Harnstoffausscheidung zu beobachten.

Hund Nr. 10.

Gewicht . . . . 20.4 kg
Ueberlebt die Operation . . . . 14 Stunden.

Harnstoff:

a) Vor der Operation: 2.846 Proc. (die in 24 Stunden ausgeschiedene Menge ist unbekannt).

b) Unmittelbar nach der Operation: 2.225 Proc. oder 6.007 g in 14 Stunden.

Dieses Resultat ist ganz besonders interessant, weil dieser Hund genau die gleiche Stundenzahl nach der Operation gelebt hat, als der Hund Nr. 11, bei dem die Leberarterie vollständig unterbunden wurde.

Die Hunde, bei denen die Arterie nur für kürzere Zeit (2 Stunden) zugeklemmt wurde, gaben uns dieselben Resultate.

Hund Nr. 20.

Gewicht . . . . 19.2 kg
Ueberlebt die Operation . . . . 26 Stunden.

Harnstoff (bestimmt nach Pflüger und Bleibtreu):

a) Vor der Operation:

1. Tag . . . . 21.648 g
2. „ . . . . 16.342 g.

b) Nach der Operation:

In 26 Stunden . . . . 14.548 g.

Um sicher zu sein, dass die Fehler der Knopp-Hüfner'schen Methode nicht wesentlich unsere Resultate beeinflussten, haben wir uns in den folgenden Fällen der Methode von Pflüger und Bleibtreu bedient. Danach fällt man den Harn mit einer Mischung von Phosphorwolframsäure und Salzsäure, alsdann erhitzt man Harnfiltrat mit Phosphorsäure.

Wir haben ferner das Verhältniss des Harnstoffsstickstoffs zum Gesammtstickstoff bestimmt; nach zahlreichen Bestimmungen erreicht der Stickstoff des Harnstoffs bei normalen Hunden etwa 89 Proc. des Gesammtstickstoffs.

Hund Nr. 22.

Gewicht . . . . 16 kg
Ueberlebt die Operation . . . . 20 Stunden.

Harnstoff:

a) Vor der Operation:

1. Tag 16.133 g oder 88 Proc. Stickstoff total
2. „ 16.68 g „ 89 „ „ „

b) Nach der Operation (Venenfistel und Arterienunterbindung während zwei Stunden):

Harnstoff 5.35 g oder 77.2 Proc. Stickstoff total.

Mit Rücksicht darauf, dass nach unseren Beobachtungen dieses Verhältniss der Stickstoffmenge des Harnstoffs zur Gesammtstickstoffmenge normaler Weise in sehr engen Grenzen variirt, muss diese Differenz als relativ gross erscheinen.

Die verhältnissmässig grosse Menge des nach der Operation ausgeschiedenen Harnstoffs erklärt sich wohl aus dem im Blute befindlichen vor der Operation gebildeten Harnstoffe.

Durch diese Resultate wurden wir zu der Frage geführt: Welche stickstoffhaltigen Körper füllen das Deficit aus, das hier im Verhältniss von Harnstoffstickstoff und Gesammtstickstoff nach der Operation sich findet?

Gleich zu Beginn dieser Untersuchungen war uns die Masse der harnsauren Sedimente im Harne von Hunden mit Venenfistel oder Arterienunterbindung aufgefallen. Um uns hierüber Aufklärung zu verschaffen, haben wir zunächst Harnsäurebestimmungen nach der Silbermethode von Salkowski bei normalen Hunden ausgeführt.

Es gelang uns nicht, ein constantes Mittel für die in 24 Stunden ausgeschiedene Harnsäuremenge zu finden. Diese Grösse hängt, sowie die Harnstoffmenge, vermuthlich bei den Hunden von der Menge der absorbirten Nahrung ab. Ebenso war es uns auch unmöglich, ein Verhältniss des ausgeschiedenen Harnstoffs zur Harnsäure festzustellen; denn die unter normalen Umständen ausgeschiedene Harnsäuremenge ist so gering im Verhältniss zur Harnstoffmenge, dass die geringsten Abweichungen in der Ausscheidungsgrösse dieser Säure einen bedeutenden Einfluss auf die Beziehungen der beiden Körper zu einander ausüben.

Folgende Resultate haben wir bei Hunden im Stickstoffgleichgewicht erhalten.

Erste Periode der Beobachtungen: Stickstoffgleichgewicht 32.0 g täglich.

Gefunden: Harnsäure.

3. Februar	0.0902 g
4. „	0.0666 g
5. „	0.0877 g
Mittel	0.0821 g.

Später Stickstoffgleichgewicht 14.5 g täglich.

Gefunden: Harnsäure.

14. Februar	0.0390 g
15. „	0.0295 g
16. „	0.0221 g
Mittel	0.0302 g.

Im 1. Falle ist das Verhältniss zum Gesammtstickstoff wie 1 : 389
„ 2. „ „ „ „ „ „ „ 1 : 480.

Es ist klar, dass diese Zahlen keine Constante darstellen; denn eine stickstoffreiche Nahrung bewirkt nicht nur eine relative, sondern auch eine absolute Steigerung der Harnsäuremenge. Hund Nr. 18, der erst eine eiweissreiche Nahrung, später nur 300 ccm Milch bekam, hat uns Untersuchungsergebnisse geliefert, die mit dem eben Gesagten übereinstimmen. Die darauf bezüglichen Zahlen sollen weiter unten folgen. Zunächst wollen wir jetzt die Zahlen anführen, welche wir bezüglich der Harnsäureausscheidung bei Hunden mit Eck'scher Venenfistel und Arterienligatur erhalten haben. Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von Salkowski.

Hund Nr. 8 (hungert vor der Operation).

a) Vor der Operation:

1. Tag: Harnsäure 0.0478 g Harnstoff 14.098 g
2. „ „ 0.0378 g „ 11.2 g
3. „ „ 0.0224 g „ 7.63 g.

b) Nach der Operation:

In 7 Stunden: Harnsäure 0.1103 g Harnstoff 3.711 g.

Hund Nr. 11.

a) Vor der Operation:

Harnsäure 0.1027 g Harnstoff 29.948 g.

b) Nach der Operation:

In 14 Stunden: Harnsäure 0.238 g Harnstoff 3.13 g.

Hund Nr. 20.

a) Vor der Operation (Eck'sche Venenfistel und Arterienligatur während zwei Stunden):

1. Tag: Harnsäure 0.0468 g Harnstoff 10.2162 g
2. „ „ 0.0402 g „ 7.812 g.

b) Nach der Operation:

In 24 Stunden: Harnsäure 0.231 g Harnstoff 7.420 g.

Man kann also die Vermehrung der Harnsäureausscheidung als ein constantes Symptom nach der Operation betrachten.

Diese Vermehrung der Harnsäureausscheidung kann nicht durch eine erhöhte Zersetzung des Körpereiweiss erklärt werden; denn die Gesammtstickstoffmenge ist nicht vermehrt, und der Harnstoff ist nicht nur nicht vermehrt, sondern vermindert. Andererseits ist auch die Temperatur der Hunde normal geblieben; nur in einigen Fällen ist sie etwas gestiegen.

Auch nach der Eck'schen Operation allein, d. h. ohne Unterbindung der Leberarterie, tritt schon eine Vermehrung der Harnsäureausscheidung ein. Die hier folgenden Zahlen beziehen sich auf die der Operation unmittelbar folgende Periode und werden zur Veranschaulichung des eben Gesagten beitragen. Der Harnstoff wurde nach Knopp und Hüfner, die Harnsäure nach Salkowski bestimmt.

Hund Nr. 14.

Gewicht . . . . 22.8 kg.

a) Vor der Operation:

Eiweissreiche Nahrung:

1. Tag	Harnsäure	0.0430 g
2. „	„	0.0606 g
3. „	„	0.0636 g.

Eiweissarme Nahrung:

1. Tag	Harnsäure	0'065 g
2. „	„	0.0171 g
3. „	„	0.0245 g.

b) Unmittelbar nach der Operation. Die gleiche eiweissarme Nahrung.

1. Tag	Harnsäure	0.1057 g
2. „	„	0.277 g
3. „	„	0.1602 g.

Bei Hunden, die die Operation gut vertragen hatten, verminderte sich die Harnsäuremenge allmählich und wurde schliesslich völlig normal. Dementsprechend ergab uns die Bestimmung der Harnsäure lange nach der Eck'schen Operation völlig normale Zahlen. Dagegen stieg die Ausscheidung der Harnsäure bei den Hunden nach der Operation sehr beträchtlich, wenn sie die im physiologischen Theile beschriebenen Vergiftungserscheinungen zeigten. Einen solchen Fall stellt der Hund Nr. 19 dar. Die Harnsäure wurde nach Salkowski und der Harnstoff nach Pflüger-Bleibtreu bestimmt.

26. Februar:	Harnsäure	0.332 g	in 24 Stunden
	Harnstoff	8.2775 g	„ „ „
27. „	Harnsäure	0.1557 g	„ „ „
	Harnstoff	4.5825 g	„ „ „
28. „	Harnsäure	0.1041 g	„ „ „
	Harnstoff	5.486 g	„ „ „

Wir lassen die Frage offen, ob diese vermehrte Ausscheidung der Harnsäure von einer Steigerung der Alkalescenz des Harnes herrührt oder eine andere Ursache hat. Salkowski hat bekanntlich constatirt, dass Hunde, deren Harn durch Darreichung von essigsaurem Natrium alkalisch gemacht worden war, $1^1/_2$ bis 2 mal so viel Harnsäure ausschieden, als gewöhnlich.

Gleichfalls erhöht erscheint nach der Eck'schen Operation die Ausscheidung eines anderen stickstoffhaltigen Körpers im Harne, des Ammoniaks. Will man sich diese Vermehrung veranschaulichen, so ist es unerlässlich, die ausgeschiedenen Mengen von Ammoniak mit der Harnstoffausscheidung zu vergleichen. Nach Hüfner steht beim normalen Menschen die Ammoniakmenge in constantem Verhältniss zur Harnstoffmenge. Diese Thatsache ist letzthin durch Kammerer bestätigt worden. Wir haben in einer ganzen Reihe von Harnanalysen, in denen das Ammoniak nach Schlösing und Schmiedeberg bestimmt wurde, bei einem Hunde im Stickstoffgleichgewicht dasselbe Resultat erhalten, d. h. es fand sich ein fast constantes Verhältniss zwischen den ausgeschiedenen Mengen von Ammoniak und Harnstoff.

Der Harnstoff wurde nach dem Verfahren von Pflüger und Bleibtreu bestimmt.

1. Das Verhältniss des Harnstoffsstickstoffs zum Ammoniakstickstoff ist wie 22 bis 28 : 1, d. h. im Mittel wie 25 : 1.

2. Das Verhältniss des Harnstoffs zu Ammoniak ist wie 40 bis 44 : 1, d. h. im Mittel wie 42 : 1.

Der Stickstoff des Ammoniaks repräsentirt 3.3 oder 4.3 Proc. des Gesammtstickstoffs, d. h. im Mittel 3.8 Proc.

Es liegt auf der Hand, dass dieses Verhältniss viel grösseren Schwankungen unterworfen ist bei Hunden, die nicht im Stickstoffgleichgewicht sind. So kann das Verhältniss von Ammoniak zu Harnstoff auf 1 : 30 steigen und auf 1 : 70 herabsinken. Bei unzureichender Ernährung kann die Ammoniakausscheidung sich im Verhältniss zum Harnstoff steigern. Jedoch trotz dieser Schwankungen werden die oben angegebenen mittleren Zahlen stets eine gewisse Gültigkeit beanspruchen können, und wir glauben sie daher auch bei unseren Beobachtungen ohne wesentliche Fehler in Betracht ziehen zu dürfen.

Vorweg sei bemerkt, dass in allen den Fällen, wo wir nicht besonders ein anderes Verfahren bezeichnen, der Harnstoff nach Knopp-Hüfner bestimmt wurde. Somit handelt es sich also in diesen Fällen um das Verhältniss von NH_3 zu Harnstoff + NH_3.

Wir geben zunächst die Zahlen, welche sich auf die Harne derjenigen Hunde beziehen, bei denen die Leber durch Arterienunterbindung, resp. Exstirpation und Venenfistel vollständig ausgeschaltet wurde.

1. Hund Nr. 1 (Leberexstirpation). Ueberlebt die Operation 6 Stunden.

Ammoniak . . . . 0.268 Proc.
„ im Verhältniss zum Harnstoff 1 : 13.

2. Hund Nr. 2 (Eck'sche Operation, Unterbindung der Arterie). Ueberlebt die Operation 24 Stunden.

Ammoniak . . . . 0.0985 Proc.
„ im Verhältniss zum Harnstoff 1 : 10.

3. Hund Nr. 20 (Eck'sche Operation, Arterienunterbindung während 2 Stunden). Ueberlebt die Operation 26 Stunden. (Harnstoffbestimmung nach Pflüger und Bleibtreu.)

a) Vor der Operation:

1. Tag: Ammoniak . . . . 0.4972 Proc.
„ im Verhältniss zum Harnstoff 1 : 40
NH_3 Proc. des Gesammtstickstoffs . . . . 4.0 Proc.

2. Tag: NH_3 . . . . 0.2761 Proc.
im Verhältniss von $NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . . . 1 : 60
Proc. des Gesammtstickstoffs . . . . . . 3.0 Proc.

b) Nach der Operation:

NH_3 . . . . 0.4279 Proc.
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 30
Proc. des Gesammtstickstoffs . . . . . 4.8 Proc.

4. Hund Nr. 22 (Eck'sche Operation und Arterienunterbindung). Ueberlebt die Operation 20 Stunden. (Harnstoffbestimmung nach Pflüger und Bleibtreu.)

a) Vor der Operation:

NH_3	0.2261 Proc.
$NH_3 : \overset{+}{U}$	1 : 73
Proc. des Gesammtstickstoffs	2.1 Proc.

b) Nach der Operation:

NH_3	0.1355 (in 20 Stunden)
$NH_3 : \overset{+}{U}$	1 : 33
Proc. des Gesammtstickstoffs	3.3 Proc.

5. Hund Nr. 23 (Eck'sche Operation und Arterienunterbindung). Ueberlebt die Operation 6 Stunden. (Harnstoff und Stickstoff wurden nicht bestimmt.)

a) Vor der Operation:

1. Tag:	NH_3	0.4675 g in 24 Stunden
		0.0918 g „ 6 „
2. „	NH_3	0.9996 g „ 24 „
		0.2490 g „ 6 „

b) Nach der Operation:

NH_3	0.1323 g in 6 Stunden.

Das gleiche Verhältniss zeigt sich bei den Hunden, bei denen nur die Venenfistel angelegt wurde. Ob diese Vermehrung der Ammoniakausscheidung im Verhältniss zum Harnstoff unmittelbar nach Anlegung der Venenfistel auftritt, vermögen wir nicht anzugeben. Aber es ist ausser Frage, dass diese relative Steigerung später, lange nach der Operation, sich zeigt, wenn die Thiere Fleischnahrung verweigern, oder wenn man sie zwingt, stickstoffreiche Nahrung zu sich zu nehmen.

So ergab der Harn eines Hundes, bei dem nach der Operation Ataxie und Amaurose eintraten, 0.9266 Proc. NH_3.

Ammoniak: Harnstoff (Verfahren Knopp-Hüfner) 1 : 7.7.

So ergab ferner der Harn des Hundes Nr. 19 mit Venenfistel, als das Thier nur wenig Fleisch geniessen wollte (Bestimmung des Harnstoffs nach Knopp-Hüfner), folgende Resultate.

In der 1. Periode (wenig Fleisch):

12. Februar:	NH_3	0.85 g
	$NH_3 : \overset{+}{U}$	1 : 24.5
13. „	NH_3	0.785 g
	$NH_3 : \overset{+}{U}$	1 : 21.5
14. „	NH_3	0.195 g
	$NH_3 : \overset{+}{U}$	1 : 33.0.

2. Periode: Der Hund verweigert durchaus Fleisch, die Vergiftungserscheinungen werden viel stärker. (Harnbestimmung nach Pflüger und Bleibtreu.)

26. Februar: NH_3 . . . . 0.5131 g
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 16.1
NH_3 des Gesammtstickstoffs. 9.8 Proc.
27. " NH_3 . . . . 0.5967 g
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 7.6
NH_3 des Gesammtstickstoffs. 20 Proc.
28. " NH_3 . . . . 0.5248 g
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 9.9
NH_3 des Gesammtstickstoffs. 15.8 Proc.

Diese Resultate ergaben die Nothwendigkeit, nicht allein das Verhältniss des N des Ammoniaks zum N des Harnstoffs in Betracht zu ziehen, sondern auch sein Verhältniss zum Gesammtstickstoff. Wie man sieht, sind die NH_3-Mengen, absolut genommen, gar nicht sehr bedeutend, obgleich in einem Falle der Stickstoff des Ammoniaks 20 Proc. des Gesammtstickstoffs darstellte. Allerdings muss in Betracht gezogen werden, dass wir auch in einem Versuch mit einem normalen — unzureichend ernährten — Hunde eine im Verhältniss zum Harnstoff etwas grössere Menge Ammoniak erhielten. Indessen ist diese Differenz so gering, dass sie bei so hohen Zahlen nicht in Betracht kommt.

Hund Nr. 15.

1. Harnanalyse während der Periode von gemischter und ungenügender Ernährung:

NH_3 . . . . 0.1948 g
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 18.9.

2. Harnanalyse mit Fleischnahrung:

NH_3 . . . . 0.3264 g
$NH_3 : \overset{+}{U}$ . . . . 1 : 24.5.

Das Resultat unserer Untersuchungen, betreffend die Ammoniakausscheidung, ist also folgendes:

1. Bewirkt die Eck'sche Operation, verbunden mit Unterbindung der Leberarterie, bei Hunden eine vermehrte Ammoniakausscheidung. In einigen Fällen ist diese Vermehrung nur relativ im Verhältniss zum N des Harnstoffs und des Gesammtstickstoffs, hingegen in anderen ist sie absolut, sobald die Thiere 20 Stunden die Operation überleben.

2. Steigt die Ammoniakausscheidung rapid bei Hunden mit Venenfistel, sobald sie die ersten Vergiftungssymptome zeigen.

Bei der Coincidenz der Vergiftungserscheinungen mit der Vermehrung des Ammoniaks im Harn mussten wir uns naturgemäss die Frage vorlegen: In welcher Form scheidet der Organismus dieses Ammoniak aus?

Schon 1875 fand Drechsel[1]) carbaminsaures Ammoniak im Hundeblute, und letzthin hat er mit Abel die Carbaminsäure auch im Pferdeharn entdeckt. Da diese beiden Autoren die Gegenwart der Carbaminsäure im normalen Menschen- und Hundeharn negiren, so mussten unsere ersten Resultate, über die wir weiter unten

[1]) Berichte der sächs. Akademie der Wissenschaften 1875, S. 177.

berichten, sehr bemerkenswerth erscheinen: Der Harn der Hunde mit Venenfistel gab all' die Reactionen, welche Drechsel und Abel[1]) als für die Carbaminsäure charakteristisch bezeichnen.

Wir haben uns bei dem Nachweis der Carbaminsäure genau an die von diesen beiden Autoren beschriebene Methode der Pferdeharnanalyse gehalten, die wir kurz hier wiedergeben wollen.

Man schüttelt 500 bis 1500 ccm Harn der Hunde mit Venenfistel mit einer hinreichenden Menge Kalkmilch während 5 bis 10 Minuten und filtrirt die Mischung. Das Filtrat wird mit etwas krystallinischem $CaCO_3$ und $CaCl_2$ versetzt und von Neuem geschüttelt, dann lässt man es so lange auf Eis stehen, bis der Niederschlag sich am Boden des Gefässes absetzt. Nun wird die Flüssigkeit in das dreifache Volumen absoluten Alkohols filtrirt und wieder auf Eis gestellt. Nach 12 bis 24 Stunden filtrirt man, wäscht den Niederschlag mit Alkohol und Aether und lässt ihn im Vacuum über SO_4H_2 trocknen. Der getrocknete und pulverisirte Niederschlag wird in Ammoniak gelöst und mit absolutem Alkohol fractionirt gefällt. Die dritte Fällung mit Alkohol und Aether gewaschen, über SO_4H_2 getrocknet, zeigt folgende Eigenschaften:

1. Sie ist leicht löslich in Wasser; die Lösung ist fast klar.

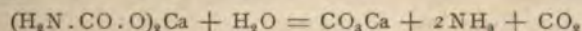
2. Aus der wässerigen Lösung entwickelt sich beim Kochen Ammoniak, und gleichzeitig bildet sich an den Wänden des Gefässes ein krystallinischer Niederschlag, er sich in HCl unter mässiger Gasentwickelung löst.

3. Mit $BaCl_2$ entsteht in der Lösung ein ziemlich starker Niederschlag, der sich durch Kochen mit HCl noch verstärkt.

Ein Theil des so aus dem Harn erhaltenen carbaminsauren Kalks wurde in Wasser gelöst und destillirt, die flüchtigen Bestandtheile in schwacher HCl aufgefangen. Das Destillat wurde zur Trockne verdunstet und im Rückstande das Ammoniak als Platindoppelsalz bestimmt.

Während der Destillation bildet sich nach und nach auf dem Boden des Gefässes ein Niederschlag von kohlensaurem Kalk. Dieser Niederschlag wird filtrirt, gewaschen und getrocknet, geglüht und gewogen.

Nach der erhaltenen Menge von Calciumoxyd wird die Menge der Kohlensäure berechnet. Wenn die wässerige Lösung von carbaminsaurem Kalk sich beim Kochen nach der Formel:

$$(H_2N.CO.O)_2Ca + H_2O = CO_3Ca + 2NH_3 + CO_2$$

zersetzt, so muss die Analyse 2 Moleküle NH_3 für ein CO_2 geben, während in unserer ersten Bestimmung das Verhältniss von Ammoniak zu Kohlensäure wie 1.2 : 1 war. Es ist uns auch später niemals gelungen, in unseren zahlreichen Versuchen das Verhältniss von Ammoniak zur Kohlensäure wie 2 : 1 zu erhalten.

So haben wir auch versucht, die Carbaminsäure mit Hülfe von Weinsäure zu zersetzen, selbstverständlich unter Beobachtung der nöthigen Cautelen; die Kohlensäure wurde im Kaliapparat aufgefangen und gewogen. Auch diese Methode giebt sehr grosse Differenzen; wir geben als Beispiel die Resultate von vier Analysen:

[1]) Drechsel und Abel, Archiv für Physiologie und Anatomie 1891, S. 236.

1. $NH_3 : CO_2$ = ... 0.6 : 1
2. „ „ = ... 0.53 : 1
3. „ „ = ... 1.7 : 1
4. „ „ = ... 2.9 : 1.

Betrachtet man aber die von Drechsel und Abel gewonnenen Resultate näher, so kann man sich der Ansicht nicht verschliessen, dass sie in ihrem Bestreben, die Carbaminsäure durch die Zerlegungsreaction nachzuweisen, nicht viel glücklicher gewesen sind. Nur eine der ausgeführten Analysen entspricht ziemlich genau der Formel, alle anderen differiren gewaltig. Wodurch diese Schwierigkeiten entstehen, lässt sich mit Bestimmtheit auch nach unseren Versuchen nicht sagen. Es ist sicher, dass man bei sorgfältigem Arbeiten das Vorkommen von Harnstoff im Niederschlage durchaus vermeiden kann[1]; aber für den Augenblick lassen wir die Frage offen:

[1]) Um mir hierüber Gewissheit zu verschaffen und die eventuelle Fehlergrenze kennen zu lernen, habe ich noch folgende Versuche angestellt:

20 g vollkommen reinen und aschefreien Harnstoffs — das Präparat enthielt 46.57 Proc. N, ber. 46.66 Proc. N — wurden in einem halben Liter Wasser gelöst und der Lösung concentrirte Kalkmilch — es wurden dazu 20 g Aetzkalk mit Wasser gelöscht — zugesetzt. Das Gemisch wurde 20 Minuten lang tüchtig geschüttelt, hierauf von dem überschüssigen Kalkhydrat filtrirt und mit 50 ccm einer 50 proc. Chlorcalciumlösung, dem etwas kohlensaurer Kalk zugesetzt wurde, von Neuem geschüttelt. Jetzt wurde die Flüssigkeit von kohlensaurem Kalk filtrirt und das Filtrat mit der fünffachen Menge absoluten, eiskalten Alkohols gemischt. Nach 24 stündigem Stehen bei 0° wurde die Flüssigkeit von dem abgeschiedenen käsigen Niederschlage filtrirt und wie üblich mit Alkohol, dann mit Aether nachgewaschen. Hierauf im Vacuum über SO_4H_2 getrocknet. Der trockene Niederschlag wurde mit Wasser verrieben, vom Ungelösten abfiltrirt und eine kleine Probe des Filtrates auf Carbaminsäure geprüft.

Die Lösung trübt sich beim Stehen, und beim Kochen giebt sie einen deutlichen Niederschlag von kohlensaurem Kalk, wobei allem Anscheine nach kein Ammoniak entweicht. Um über die Anwesenheit von Ammoniak uns Gewissheit zu verschaffen, wurde der ganze Rest des Filtrates in einem Kolben unter Durchleitung von reiner Luft zum Kochen erhitzt und die entweichenden und abgekühlten Dämpfe in wenig Salzsäure aufgefangen. Die salzsaure Lösung mit etwas Platinchlorid auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess 0.0004 g des Doppelsalzes, entsprechend 0.000029 g NH_3. Der in dem Kolben hinterbliebene Kalk wurde in wenig Essigsäure gelöst und mit oxalsaurem Ammon gefällt. Nach dem Glühen war die Menge des erhaltenen CaO = 0.0934 g.

Der Versuch wurde noch einmal mit ähnlichem Resultate wiederholt. Die Menge des erhaltenen Platinsalmiaks betrug 0.0006 g = 0.000043 g NH_3. Die Menge des aus der Lösung abgeschiedenen Kalkes war = 0.1202 g.

Es geht hieraus hervor, dass der Niederschlag, in welchem kaum wägbare Spuren von Ammoniak zu finden sind, ziemliche Mengen einer Calciumverbindung enthält, welche beim Kochen kohlensauren Kalk abscheidet. Die Ursache hiervon liegt in der nicht unbeträchtlichen Löslichkeit des Calciumhydroxyds in Alkohol. Nach unseren Bestimmungen sind in 100 Theilen 80 proc. Alkohols bei 20° 0.0094 g CaO_2H_2 löslich. Diese Löslichkeit wird durch Gegenwart von $CaCl_2$ noch erhöht. Man konnte immerhin denken, dass die von uns gefundenen Spuren von NH_3 doch von der Zerlegung des Harnstoffs durch den Kalk schon in der Kälte herrühren. Die erste Stufe der Hydratation des Harnstoffs ist eben carbaminsaures Ammoniak — $CON_2H_4 + H_2O = NH_2.COONH_4$. — War diese Voraussetzung richtig, so müsste in einer längere Zeit gekochten Harnstofflösung die Menge des carbaminsauren Kalkes eine grössere sein. Der Versuch hat diese Voraussetzung nicht bestätigt. Ein ½ Liter 2½ proc. Harnstofflösung wurde 2 Stunden lang unter Erneuerung des ver-

Besteht, wie Drechsel und Abel voraussetzen, eine bis jetzt unbekannte Verbindung, die bei ihrer Zersetzung Kohlensäure und Ammoniak liefert? Sicher ist, dass alle Niederschläge mit schwefelsauren Salzen stark verunreinigt sind. Einmal haben wir im Niederschlage auch flüchtige Fettsäuren gefunden. Wir destillirten den Niederschlag von carbaminsaurem Calcium nach Ansäuern mit Schwefelsäure und fanden in dem Destillate saure Reaction. Einige Reactionen, die der Niederschlag gab, sowie die Thatsache, dass wir im normalen Hundeharn schon Essigsäure mit Spuren von Buttersäure gemengt gefunden hatten, führten uns zu dem Schluss, dass es sich hierbei wesentlich um Essigsäure handele. Die Menge der Essigsäure im Niederschlage betrug 0.1 g in 0.75 g. Ob der Harn ausser dem neutralen Calciumsalz noch ein basisches Salz der Carbaminsäure enthält, das vermögen wir nicht mit Bestimmtheit anzugeben. Aber nimmt man die Gegenwart dieses Salzes an, so wären einige Beobachtungen erklärlich, die man bei den Zersetzungsreactionen der Kalksalzniederschläge macht. Für uns z. B. steht es ausser allem Zweifel, dass die chemische Synthese der Carbaminsäure, die wir bei unseren physiologischen Versuchen öfters anwenden mussten, mehr oder minder stabile Kalksalze ergiebt. In der Mehrzahl der Fälle zersetzt sich z. B. das carbaminsaure Calcium in wässeriger Lösung sehr schnell, und manchmal erhält man im Gegentheil merkwürdig stabile Lösungen, die sich erst nach einiger Zeit trüben oder bei stärkerer Erwärmung. Dieselbe Verschiedenheit in der Stabilität der wässerigen Lösung des carbaminsauren Calciums haben wir in den Niederschlägen aus dem Hundeharn beobachtet. Im Allgemeinen beruht der sicherste Beweis für die Gegenwart von Carbaminsäure nach unserer Erfahrung darauf, dass die Trübung der wässerigen Lösung des Kalksalzes rasch eintritt und schon bei Zimmertemperatur. Das ist ein sichererer Beweis, als die Bildung eines Niederschlages beim Kochen. In den Fällen, wo die wässerige Lösung sich nicht rasch trübte, haben wir dieselbe mitunter dadurch hervorrufen können, dass wir die wohlverschlossenen Lösungen eine Viertelstunde lang in den Brütschrank bei 39° stellten. Diese Verschiedenheit in der Stabilität der Kalksalze der Carbaminsäure, sowohl derjenigen, die auf synthetischem, als derjenigen, welche auf analytischem Wege erhalten wurden, lässt uns voraussetzen, dass wir in dem Niederschlage vielleicht nicht nur ein Salz, sondern ein Gemisch eines basischen und eines neutralen Salzes hatten. Um alle Fehlerquellen zu vermeiden, haben wir uns übrigens immer überzeugt, ob der nach dem Stehen entstandene krystallinische Niederschlag

---

dampfenden Wassers gekocht und nach dem Erkalten, wie oben auf Carbaminsäure verarbeitet. Wir erhielten hier 0.0006 g Platinsalmiak = 0.000043 g NH_3.

Bei der Verarbeitung des Harnes auf Carbaminsäure nach der Vorschrift Drechsel's gehen also in den schliesslich Carbaminsäure enthaltenden Niederschlag (gutes Auswaschen vorausgesetzt) neben Spuren einer Ammoniak gebenden Substanz nicht unbeträchtliche Mengen von Kalk über, welche, sei es in Folge der Verarbeitung, sei es beim Trocknen, Kohlensäure enthalten, denn der getrocknete und hernach in Wasser gelöste Niederschlag giebt stets beim Erwärmen geringe Mengen von Calciumcarbonat. Wir sind daher nur dann berechtigt, auf die Gegenwart von carbaminsaurem Kalk in dem Niederschlag zu schliessen, wenn das Filtrat davon bei gelindem Erwärmen nicht allein Trübung von kohlensaurem Kalk, sondern auch deutliche und wägbare Mengen von Ammoniak giebt.

Nencki.

nur aus Calciumcarbonat bestand und die Flüssigkeit beim Kochen auch NH_3 entwickelte. Dieser Niederschlag löste sich stets klar in Essigsäure, ohne grosse Gasentwickelung; das konnte man aber bei den kleinen Quantitäten von Calciumcarbonat, mit denen wir es hier zu thun hatten, auch nicht anders erwarten. Suspendirt man so kleine Mengen von kohlensaurem Kalk in Wasser und zersetzt ihn, so kann man sich leicht überzeugen, dass auch in diesem Fall die Gasentwickelung ganz unbedeutend ist.

Unsere weiteren Resultate stimmen in einem Punkt mit denen der Herren Drechsel und Abel nicht überein. Nach ihrer Angabe ist in der Norm Carbaminsäure weder im Menschen- noch im Hundeharn zu finden. Sie nehmen ferner an, dass die Gegenwart von Carbaminsäure im Harn der Pflanzenfresser sich durch die alkalische Reaction dieses Harnes erklären lässt. Zunächst sei bemerkt, dass nicht nur der Harn der Pflanzenfresser, wie der der Kaninchen und Ziegen (der auch die Reaction der Carbaminsäure zeigt), eine alkalische Reaction hat. Auch der Harn der Hunde, namentlich kurz nach der Mahlzeit entleert, reagirt zuweilen alkalisch[1]. Das ist eine Thatsache, die wir während unserer Versuche mehr als einmal beobachtet haben. Ausserdem aber konnten wir das Vorkommen von Carbaminsäure ohne Zweifel zufällig im sauren Harn der Pferde feststellen. Ferner haben wir mehrere Male alle charakteristischen Reactionen der Carbaminsäure im normalen sauren Hunde- und Menschenharn, sowie auch in dem sauren Harn von Gänsen mit extirpirter Leber constatirt. Um die Carbaminsäure im normalen Menschenharn nachzuweisen, wurden zweimal je 500 ccm eines Harngemisches genau nach der Methode von Drechsel verarbeitet: In beiden Versuchen erhielten wir positive Resultate.

Auch normaler Hundeharn wurde viermal daraufhin untersucht. In drei Fällen erhielten wir die charakteristischen Reactionen der Carbaminsäure: Im vierten Fall erhielten wir trotz wiederholter Untersuchung und trotz alkalischer Reaction nur einmal eine kaum nennenswerthe Trübung und eine schwache Ammoniakentwickelung beim Erwärmen der wässerigen Kalksalzlösung.

Acht Untersuchungen, die wir mit dem Harne von Hunden mit Venenfistel anstellten, haben uns nun durch dabei beobachtete Reactionen gezeigt, dass der Harn operirter Hunde mehr Carbaminsäure enthielt, als der normaler Thiere. An einem Hund, dessen Harn vor der Operation keine Carbaminsäure enthielt, versuchten wir nun zu entscheiden, ob dies Vorkommen von Carbaminsäure im Harn operirter Thiere von der Operation im Allgemeinen und bis zu welchem Punkte im Besonderen abhängt. Drei Tage nach der Operation erhielten wir im Harn dieses Hundes einen Kalksalzniederschlag, der alle charakteristischen Reactionen der Carbaminsäure zeigte. Die Zersetzung dieses Niederschlages gab uns zugleich das beste Resultat, das wir je erhalten haben. Die Ammoniakmenge verhielt sich zur CO_2-Menge wie 1.7 : 1. Dieses Ergebniss hat uns den Weg für unsere ferneren Arbeiten nach dieser Richtung gezeigt. Zunächst musste nunmehr festgestellt werden, ob eine

[1]) In einer letzthin veröffentlichten Abhandlung des Herrn Prof. John J. Abel (The University Record of Michigan, June 1892, p. 46) macht er die Angabe, dass der Hundeharn, der durch Zugabe von Kalk zum Futter alkalisch gemacht wurde, merkliche Mengen von Carbaminsäure enthalte.

[illegible]scheidung von Carbaminsäure bei den Hunden eintritt, deren Harn [illegible]peration diese Säure enthielt. Allerdings war eigentlich schon vor-[illegible]schwierig es sein würde, die Carbaminsäure genau zu bestimmen. [illegible] durch den Harn absorbirte Kohlensäure durch Luft ausgetrieben; [illegible]hgend eine organische Säure (Weinsäure, Oxalsäure) hinzu und be-[illegible] Carbaminsäure nach der Menge der nach Zusatz der organischen [illegible] gewordenen Kohlensäure. Diese Versuche gaben schon an sich sehr [illegible]ankende Resultate; erhitzt man aber am Schluss der Operation nicht, so werden [illegible] Resultate noch differenter. Hierdurch findet aber wieder eine bedeutende Zersetzung des Harnstoffes statt. So zersetzten sich 0.317 g Harnstoff in 50 ccm einer 2 proc. während einer halben Stunde erhitzten Lösung. Auch die Kohlensäure in dem Kalkniederschlage aus dem Harn lässt sich durch dieses Verfahren nicht bestimmen. Harnstoff, der die Bestimmung hindern könnte, ist hier freilich nicht vorhanden, aber der Niederschlag enthält noch andere, weiter oben erwähnte Körper. So lange man aber nicht genau die Menge der Carbaminsäure im Harn bestimmen und alle anderen organischen Körper (flüchtige Fettsäuren u. s. w.), die im Kalksalzniederschlage enthalten sind, gänzlich entfernen kann, kann von genauen Resultaten nicht die Rede sein.

Wir mussten uns also mit einer approximativen Bestimmung der Carbaminsäure begnügen, die auf der Stärke der Reaction und der erhaltenen Ammoniakmenge basirte. Jedenfalls halten wir uns zu der Versicherung für berechtigt, dass die Zersetzungsreaction der Carbaminsäure in dem vor der Operation gelassenen Harne viel schwächer ist, als später, wenn die Venenfistel angelegt ist. Vier vergleichende Analysen, die wir nach dieser Richtung machten — bei einem Hunde war neben der Venenfistel auch noch Ligatur um die Leberarterie angelegt —, gaben uns durchaus übereinstimmende Resultate.

Die Schwierigkeiten, die sich uns auf diesem Wege entgegenstellten, führten uns zu Versuchen auf anderer Grundlage. Wir studirten die Wirkung von synthetisch dargestellter Carbaminsäure, die in den Magen und in das Blut operirter und nicht operirter Thiere eingeführt wurde. Die in den Magen eingeführte Carbaminsäure bringt toxische Wirkungen nur bei Hunden mit der Eck'schen Venenfistel hervor. Die Harnanalyse von normalen und operirten Hunden ergab die folgenden Resultate:

Normaler Hund, 20.2 kg schwer, erhält 10 g carbaminsaures Natrium per os. Schied aus in 24 Stunden:

0.105 g Ammoniak und 13.5 g Harnstoff (nach Knopp-Hüfner)
Ammoniak zu Harnstoff wie 1 : 128.

Operirter Hund, 15.6 kg schwer, erhält 10 g carbaminsaures Natrium per os. Intensive Vergiftungserscheinungen. Schied in 24 Stunden nach Einführung der Carbaminsäure aus:

0.8727 g Ammoniak und 9.25 g Harnstoff
Ammoniak zu Harnstoff wie 1 : 10.6.

Dabei muss allerdings bemerkt werden, dass bei diesem Hunde (s. Hund Nr. 19. 26. bis 28. Februar im chemischen Theil dieser Arbeit) das Verhältniss von Ammoniak zu Harnstoff auch in den Tagen, welche diesem Versuche vorausgingen, ein ziemlich

hohes war. Die Untersuchungen zur Entscheidung der Frage, ob die Carbaminsäure, auf die eine oder andere Weise dem Hunde beigebracht, in den Harn übergeht, ergaben die folgenden Resultate:

200 ccm normalen Hundeharns gaben bei den ersten Alkoholfällen 0.363 g Kalksalze. Eine gleiche Menge Harn eines operirten Hundes gab 1.5308 g der gleichen Zusammensetzung. Der Niederschlag der Kalksalze des normalen Hundeharns zeigte selbst in toto gelöst nicht die geringste Spur von Carbaminsäurereaction, während das kleinste Partikelchen im Niederschlage des Harns des operirten Hundes bei geringer Temperaturerhöhung eine deutliche Trübung zeigte, die sich in Säuren unter Gasentwickelung und Freiwerden von Ammoniak leicht löste.

Vergeblich haben wir versucht, eine fixe, leicht zu isolirende Verbindung der Carbaminsäure zu bekommen: wir liessen auf die reinen Salze der Carbaminsäure verschiedene Aldehyde, sodann Chlorkohlensäure, Acetylchlorid, Benzoylchlorid und ähnliche Körper einwirken. Aber es gelang uns nicht, ein in alkalischen Lösungen unlösliches oder wenig lösliches Salz irgend eines Metalles mit Carbaminsäure zu erhalten; in den sauren Lösungen trat aber stets Zersetzung mit Carbonatbildung ein. So war es uns auch unmöglich, die Carbaminsäure im Blut und im Harn genau zu bestimmen. Auch bei dem Nachweis der Carbaminsäure im Blute von zwei Hunden mit Venenfisteln, die sich in dem Höhestadium der Vergiftung befanden, hielten wir uns an die Drechsel'sche Methode. Die Hunde wurden durch Arterieneröffnung während des comatösen Zustandes getödtet. Das Blut wurde direct in absolutem, auf 0° abgekühltem Alkohol aufgefangen. Dann wurde das Coagulum durch Filtration abgetrennt und das Coagulum und die Flüssigkeit auf die Gegenwart von Carbaminsäure geprüft: beide enthielten beträchtliche Mengen Carbaminsäure, wenigstens nach der Menge der erhaltenen Kalksalze (ungereinigt) zu urtheilen.

Wir haben Grund genug, vorauszusetzen, dass die chemischen Processe, welche die Grundlage der physiologischen Verbrennung bilden, sich vermittelst protoplasmatischen Eiweisses vollziehen, dessen chemische Constitution im höchsten Grade labil und unbeständig ist. So ist auch die Thatsache interessant, dass die Carbaminsäure — die die letzte Umwandlungsstufe des Albumins in Harnstoff, also das Endproduct der Verbrennung der Eiweissstoffe im lebenden Organismus ist — auch eine im höchsten Grade labile und unbeständige Verbindung ist.

Die Methode Ludwig's und seiner Schüler Schmiedeberg, Bunge, Frey, Schröder u. A., verschiedene Lösungen in überlebende Organe getödteter Thiere einzuführen, hat der Physiologie grosse Dienste geleistet. Man weiss, dank der Arbeiten von Schröder[1]), besonders was die Leber betrifft, dass 0.16 bis 0.87 g kohlensaures oder ameisensaures Ammoniak zu 900 bis 1500 ccm Blut zugesetzt beim Durchgang durch die Leber sich in Harnstoff verwandeln. Minkowski[2]) hat diese Resultate durch seine Betrachtungen über den Stoffwechsel der Gänse, denen die Leber exstirpirt wurde, vervollständigt. Normale Gänse scheiden 1 bis 4.5 g Harnsäure, je nach der Ernährung, oder 60 bis 70 Proc. des Gesammtstickstoffs als Harnsäure aus, während bei Gänsen mit exstirpirter Leber die Harnsäuremenge auf 0.5

[1]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **15**, 364—402.

[2]) Ebenda **21**, 41.

bis 0.25 g oder 3 bis 4 Proc. des Gesammtstickstoffs herabsinkt, während hingegen die Menge des ausgeschiedenen nicht 9 bis 18 Proc. des Gesammtstickstoffs übersteigenden Ammoniaks nach der Exstirpation der Leber bis auf 50 bis 60 Proc. steigt. Dasselbe wird hauptsächlich in Form von milchsaurem Ammoniak ausgeschieden. Man kann also auf Grund der Arbeiten dieser Autoren sagen, dass die Leber das Organ ist, wo bei den Säugethieren der Harnstoff und bei den Vögeln die Harnsäure gebildet wird.

Es sind 24 Jahre her, dass O. Schultzen und der eine von uns[1]) beobachteten, dass die Amidosäuren, wie Leucin und Glycocoll, die man durch Hydratation der Eiweissstoffe erhält, in den Organismus eingeführt als Harnstoff ausgeschieden wurden. Wir hatten damals schon die Hypothese aufgestellt, dass diese Amidosäuren sich im Organismus oxydiren und in Carbaminsäure verwandeln, und dass das carbaminsaure Ammoniak, indem es Wasser abgiebt, seinerseits in Harnstoff sich umwandelt[2]). Diese Hypothese gewann an Wahrscheinlichkeit, als Drechsel[3]) das Vorkommen der Carbaminsäure im Blute constatirte. Jetzt, wo es vollständig bewiesen ist, dass im Organismus der Säugethiere der Harnstoff aus carbaminsaurem Ammoniak gebildet wird, sei es gestattet, den bei dieser Umwandlung sich vollziehenden chemischen Process zu analysiren, sowie auch den der Bildung der Uramidosäuren etwas genauer zu betrachten.

Man kann den Harnstoff ausserhalb des Organismus sowohl aus cyansaurem, aus auch kohlensaurem resp. carbaminsaurem Ammon erhalten. Die erste Bildungsweise ist die bekannte Harnstoffsynthese von Wöhler[4]). Bassarow[5]) zeigte in Kolbe's Laboratorium, dass kohlensaures oder carbaminsaures Ammoniak, auf 130 bis 140° erhitzt, sich theilweise zu Harnstoff umwandeln. Von besonderer Wichtigkeit aber für die Erklärung der Harnstoffbildung im Thierkörper sind die Untersuchungen Drechsel's[6]).

Er hat zunächst gezeigt, dass bei der Oxydation von Glycocoll, Leucin, Tyrosin, sowie überhaupt aller stickstoffhaltigen Kohlenstoffverbindungen in alkalischer Lösung stets Carbaminsäure sich bildet. Sodann fand er, dass bei der Elektrolyse des carbaminsauren oder kohlensauren Ammoniaks mit Wechselströmen, wenn auch in geringer Menge, Harnstoff entsteht. Selbst bei gleichgerichtetem Strome wurde, sobald in der als Elektrolyt angewendeten Lösung des carbaminsauren Ammons feinvertheilter Platinmoor suspendirt war, ein geringer Theil des Salzes zu Harnstoff umgewandelt. Da nun die Elektrolyse mit Wechselströmen auf gleichzeitiger Oxydation und Reduction beruht, so erklärt Drechsel[7]) die Bildung des Harnstoffs aus carbaminsaurem Ammon nach folgendem Schema:

---

[1]) Ber. **2**, 566 und Zeitschrift f. Biologie **8**, 124. — Nencki's Opera omnia **1**, 1.

[2]) l. c. u. M. Nencki, „Die Wasserentziehung im Thierkörper". Ber. **5**, 890. — Nencki's Opera omnia **1**, 43.

[3]) Ber. d sächs. Akademie der Wissenschaften 1875, S. 177.

[4]) Poggendorff's Annalen **12**, 53; **15**, 627.

[5]) Liebig's Annalen **146**, 142.

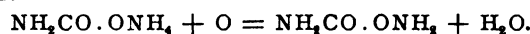
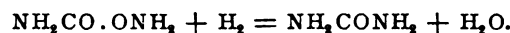
[6]) l. c. u. Journ. f. prakt. Chem. **22**, 476.

[7]) Beiträge zur Physiologie, C. Ludwig zu seinem 70. Geburtstage gewidmet. Leipzig 1886, S. 1.

1. Oxydation:

$$NH_2CO.ONH_4 + O = NH_2CO.ONH_2 + H_2O.$$

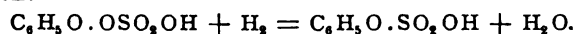
2. Reduction:

$$NH_2CO.ONH_2 + H_2 = NH_2CONH_2 + H_2O.$$

In gleicher Weise erklärt er die Vereinigung zweier Moleküle, z. B. die Phenolätherschwefelsäurebildung, wie sie bei der Elektrolyse mit Wechselströmen oder im Organismus stattfindet.

1. Oxydation:

$$C_6H_5OH + HO.SO_2OH + O = C_6H_5O.OSO_2OH + H_2O.$$

2. Reduction:

$$C_6H_5O.OSO_2OH + H_2 = C_6H_5O.SO_2OH + H_2O.$$

Drechsel vertritt auch die Ansicht, dass im Organismus die Bildung des Harnstoffs aus carbaminsaurem Ammon nach dem obigen Schema und zwar auf elektrolytischem Wege zu Stande kommt.

Entspricht nun diese Annahme der Wirklichkeit? Es steht fest, dass die chemischen Umsetzungen in lebendigen Organismen auf gleichzeitiger Oxydation und Reduction beruhen. Beim Schmelzen organischer Stoffe mit Kalihydrat findet gleichzeitig Oxydation und Reduction statt, und wir können z. B. durch Schmelzen von Eiweiss mit Kalihydrat fast alle die Producte erhalten, die durch die den Lebensprocess der Eiweissgährung bewirkenden Spaltpilze daraus gebildet werden. Nach Hoppe-Seyler wirkt Palladiumwasserstoff mit Luft und Wasser geschüttelt gleichzeitig oxydirend und reducirend. Die Oxydulsalze des Eisens und Kupfers, eine grosse Anzahl organischer Stoffe, die namentlich in alkalischer Lösung stark reducirend wirken (Aldehyde, Ketone u. s. w.), wie überhaupt alle Verbindungen, die schon mit dem molekularen atmosphärischen Sauerstoff in Reaction treten, können mehr oder weniger die Bildung der gleichen Umsetzungsproducte zur Folge haben, die als Producte des thierischen Stoffwechsels auftreten. Von dem lebendigen thierischen Protoplasma ist es bekannt, dass es stark reducirend wirkt und in steter Wechselwirkung mit dem atmosphärischen Sauerstoff sich befindet, überhaupt bei Ausschluss von Sauerstoff in den inerten, todten Zustand übergeht.

Drechsel zeigte, dass ähnlich wie durch die aufgezählten Körper auch durch die Wechselströme die chemischen Processe, wie sie sich im Thierkörper abspielen, nachgemacht werden können. Wir sehen, dass hier verschiedene Ursachen die gleiche Wirkung haben, eben nur deshalb, weil ihnen der gleiche Effect, nämlich die gleichzeitige Oxydation und Reduction, gemeinschaftlich ist.

Sind es nun gerade die galvanischen Ströme, welche z. B. in der Leber die Umwandlung des carbaminsauren Ammoniaks zu Harnstoff oder in den Magendrüsen die Zerlegung des Kochsalzes in freie Salzsäure und Alkalihydroxyd resp. -carbonat bewirken? Wir denken, die entscheidende Antwort hierauf können erst später unsere Nachfolger geben, wenn mehr thatsächliches Material vorhanden und eine präcisere Fragestellung möglich sein wird. Die eine Thatsache ist sicher, dass selbst die Vereinigung zweier Moleküle, wie z. B. Hippursäure- oder Aetherschwefelsäurebildung, den Durchblutungsversuchen nur bei gleichzeitiger Oxydation, d. h. nur wenn arterielles Blut den Geweben zugeführt wird, möglich ist.

Man könnte den Vorgang auch so erklären, dass das reducirende protoplasmatische Eiweiss den vom Oxyhämoglobin entnommenen molekularen Sauerstoff (ähnlich wie der Benzaldehyd beim Uebergang in Benzoësäure) in seine beiden Atome spaltet, wovon das eine Atom z. B. bei der Hippursäurebildung das Glycocoll und die Benzoësäure, unter Abspaltung von Wasser zu der Verbindung: $C_6H_5CO.O.NH.CH_2CO_2H$ oxydirt.

Die Verbindung: $C_6H_5CO.O.NH.CH_2CO_2H$ aber, sowie die hypothetischen von Drechsel: $NH_2.CO.O.NH_2$ oder $C_6H_5.O.O.SO_2.OH$, sind in freiem Zustande nicht bekannt und wohl auch nicht existenzfähig, namentlich in Gegenwart des leicht oxydablen protoplasmatischen Eiweisses. Dieses letztere müsste den hypothetischen Zwischenverbindungen den Sauerstoff sofort entziehen und sie so in Hippursäure resp. Harnstoff und Phenolätherschwefelsäure überführen. Diese Hypothese steht an innerer Wahrscheinlichkeit der Drechsel'schen nicht nach und macht die an sich unwahrscheinliche Annahme des nascirenden Wasserstoffs in unseren Geweben entbehrlich.

Auf gleiche Weise wie die Harnstoffbildung muss auch die Bildung der Uramidosäuren, die ja nichts anderes als substituirte Harnstoffe sind, in der Leber vor sich gehen. Ausserhalb des Organismus werden diese Säuren bekanntlich entweder durch directe Addition von Cyansäure zu den Amidosäuren oder durch Erhitzen mit Harnstoff unter Abspaltung von Ammoniak erhalten. Die Bildung der Uramidosäure im Thierkörper wurde von E. Salkowski[1]) gelegentlich seiner Untersuchung über das Verhalten des Taurins im Organismus entdeckt. Kurz darauf constatirte Salkowski[2]), dass auch die eingenommene meta-Amidobenzoësäure vom Menschen und Hunde als Uramidobenzoësäure ausgeschieden wird.

Das gleiche Verhalten wird von Dr. J. Pruszyński[3]) für die ortho- und para-Amidosalicylsäure bestätigt. Nach Blendermann[4]) wird das Tyrosin theilweise als Uramidosäure ausgeschieden, und vor Kurzem fand J. Ville[5]), dass die Sulfanilsäure von Hunden ebenfalls als Sulfanilcarbaminsäure $= C_6H_4<^{NH.CO.NH_2}_{SO_3H}$ ausgeschieden wird.

Die Bildung der Uramidosäuren im Organismus findet nur dann statt, wenn in den eingeführten Amidosäuren die Amidogruppe (NH_2) als solche vorhanden ist. Die Angabe Schultzen's[6]), dass das Sarkosin $= CH_3NH.CH_2.CO_2H$ im Thierkörper sich mit Carbaminsäure verbindet, wurde nicht bestätigt. Nach Naunyn[7]), Baumann und v. Mering[8]) wird das Sarkosin unverändert ausgeschieden. Nach Salkowski[9]) geht neben dem unveränderten Sarkosin ein kleiner Theil als Methyl-

[1]) Virchow's Archiv **58**, 28 u. 460.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chem. **7**, 94.
[3]) Gazeta lekarska. Jahrg. 1889, Nr. 49. — Dieser Band S. 141.
[4]) Ber. **15**, 1206.
[5]) Compt. rend. **114**, 228 (1892).
[6]) Ber. **5**, 578.
[7]) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. **5**, 399.
[8]) Ber. **8**, 584 (1875).
[9]) Ebenda. **8**, 638.

harnstoff in den Harn über. Interessant ist es aber, dass die Angaben des schon damals psychisch schwerkranken Mannes — Schultzen starb einige Jahre später an Paralyse der Irren — Veranlassung wurde zu Untersuchungen, welche seine Vermuthung bezüglich des Modus der Harnstoffbildung bestätigten.

Gleichwie das Sarkosin verhält sich nach unserer Beobachtung die para-Acetylamidosalicylsäure = $C_6H_3.(OH).(CO_2H).(NH.COCH_3)$. Diese Säure, in welcher also ein Amidwasserstoff durch ein Säureradical ersetzt ist, passirt den Thierkörper unverändert. Ein Hund, 18 kg schwer, erhielt während drei Tagen je 6 g der acetylirten Säure, die er ohne alle Beschwerden mit seinem Futter verzehrte. Der gesammelte Harn wurde zum Syrup verdunstet, mit Alkohol extrahirt und nach dem Verdunsten des Alkohols aus dem Filtrate die unveränderte Säure durch Salzsäure krystallinisch gefällt. Einmal umkrystallisirt, schmolz das Präparat bei 218° C. und ergab bei der Elementaranalyse mit der Formel: $C_6H_3(OH).CO_2H.(NHCOCH_3)$ übereinstimmende Zahlen. Berechnet C 55.38 Proc., H 4.61 Proc. und 7.18 Proc. N, gef. C 55.20 Proc., H 4.82 Proc. und 7.4 Proc. N. Mehr als 70 Proc. der verfütterten Säure wurden aus dem Harn wiedergewonnen. Ein anderes Umwandlungsproduct war darin nicht vorhanden.

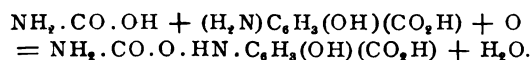
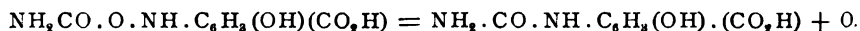
Wir wählten zu unseren Versuchen absichtlich dieses Acetylproduct, weil nach der in unserem Laboratorium gemachten Beobachtung des Herrn Dr. Pruszyński (l. c.) gerade die para-Amidosalicylsäure = $C_6H_3(CO_2H).(OH).(NH_2)$; $CO_2H:OH:NH_2 = 1:2:5$ sich besonders leicht mit Carbaminsäure verbindet und selbst nach Dosen bis zu 10 g pro die von grösseren Hunden als Uramidosäure ausgeschieden wird.

Da die Uramidosäuren substituirte Harnstoffe sind, so muss auch ihre Bildungsstätte in der Leber sein. Thiere mit möglichst vollständig entfernter Leber würden voraussichtlich eingeführte Amidobenzoësäure oder Amidosalicylsäure unverändert ausscheiden. Analog der Harnstoff- oder Hippursäurebildung lässt sich der chemische Vorgang z. B. für die Uramidosalicylsäure durch folgende Gleichung formuliren:

1. Oxydation:

$$NH_2.CO.OH + (H_2N)C_6H_3(OH)(CO_2H) + O$$
$$= NH_2.CO.O.HN.C_6H_3(OH)(CO_2H) + H_2O.$$

2. Reduction:

$$NH_2CO.O.NH.C_6H_3(OH)(CO_2H) = NH_2.CO.NH.C_6H_3(OH).(CO_2H) + O.$$

Wir lassen es hier offen, ob die Sauerstoffentziehung durch das reducirende protoplasmatische Eiweiss oder durch den nascirenden Wasserstoff oder auf eine andere Weise geschieht.

Ueber das Verhalten derjenigen Amidosäuren, welche von Säugethieren als Uramidosäuren ausgeschieden werden, im Organismus der Vögel liegen bis jetzt keine Versuche vor. Nach Minkowski (l. c.) wird bei den Vögeln durch die Leberexstirpation die Harnstoffbildung resp. -ausscheidung nicht beeinflusst und scheint hier die Leber vorzugsweise die Bildungsstätte der Harnsäure zu sein. Gerade mit Rücksicht hierauf und mit Rücksicht auf die Beobachtung von Jaffé[1]), wonach von

[1]) Ber. **10**, 1925 u. **11**, 406.

den Vögeln die eingeführte Benzoësäure nicht als Hippursäure, sondern in Verbindung mit dem Ornithin[1]) als Ornithursäure ausgeschieden wird, dürften bei Vögeln Fütterungsversuche mit Taurin, Amidobenzoësäure oder Sulfanilsäure von besonderem Interesse sein.

Das im ersten Theile dieser Untersuchungen entworfene Bild der Carbaminsäurevergiftung wurde erst erhalten, nachdem wir die Carbaminsäure im Harn aufgefunden und als die Folge der wesentlichsten Störung im Stoffwechsel der Hunde mit Pfortaderfistel erkannt haben. Unzweifelhaft spielt die Carbaminsäure eine wichtige Rolle bei verschiedenen Erkrankungen, auch dürfte die z. B. von Hallerworden bei Diabetes mellitus und bei interstitieller Hepatitis constatirte vermehrte Ammoniakausscheidung zum Theil von Carbaminsäure im Harn herrühren. Es ist sicher, dass die Untersuchungen auf Carbaminsäure im Blute und Harn, namentlich sobald es gelingt, sie quantitativ zu bestimmen, uns ein besseres Verständniss verschiedener pathologischer Zustände verschaffen werden.

Es bleibt unentschieden, ob bei den Säugethieren die Leber das einzige Organ ist, das aus carbaminsaurem Ammoniak Harnstoff bildet, da Hunde mit fast gänzlich exstirpirter Leber oder mit Venenfistel und unterbundener Leberarterie noch immer Harnstoff in ihrem Harn hatten, was mit Rücksicht auf die letzten Versuche W. von Schröder's[2]) mit Haifischen wohl zu beachten ist. Diese Thiere (Scyllium catulus) überlebten die Leberexstirpation 70 Stunden, und man hat keine Harnstoffabnahme in ihren Muskeln beobachtet; es resultirt daraus, dass Leberexstirpation nicht den in den Muskeln enthaltenen Harnstoff beeinflusst.

Es entsteht ferner die Frage, wo das carbaminsaure Ammoniak gebildet wird, das sich in den Leberzellen in Harnstoff verwandelt. Die Auflösung und Umwandlung der Eiweissstoffe in Albumosen und Peptone findet im Magen und im Darme statt, und durch die Wände dieses letzteren Organes werden sie resorbirt. Ammoniak entsteht nur im Dickdarme, wo eine geringe Menge Eiweiss durch die darin enthaltenen Bacterien eine tiefere Zersetzung erleidet. Man könnte voraussetzen, dass die durch das Blut der Pfortader in die Leber gelangten Albumosen und Peptone hier Veränderungen erleiden, dass hier durch eine tiefere Zersetzung carbaminsaures Ammoniak gebildet wird, das seinerseits in den Leberzellen sich sofort in Harnstoff umwandeln würde. Aber diese Voraussetzung wird dadurch hinfällig, dass gerade dann, wenn die Leberzellen fettig degenerirt oder atrophirt sind, im Blute und im Gewebe der Venenfistelhunde am meisten Carbaminsäure gefunden wird. Gerade während dieser Periode kann das Thier am wenigsten Injectionen von carbaminsaurem Natrium und Fleischnahrung vertragen.

Wir kommen also, unter Ausschluss der zwei ersten Annahmen, zu der dritten Hypothese, dass es in erster Linie die Leberarterie ist, die den Leberzellen das carbaminsaure Ammoniak zuführt. Schon weiter oben wurde gesagt, dass überall, wo die Oxydation stickstoffhaltiger organischer Körper in alkalischer Flüssigkeit statt-

---

[1]) Nach den kürzlich publicirten Untersuchungen Drechsel's (Ber. d. sächs. Akad. 1892, S. 115) ist das Ornithin, $C_5H_{12}N_2O_2$, eine Diamidovaleriansäure.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 576 bis 598.

findet, als letztes Product der Verbrennung sich Carbaminsäure bildet; und gerade diese Bedingungen sind in unseren Geweben vorhanden. Die Pfortader bringt nur so viel Carbaminsäure in die Leber, als sie Blut aus der Milz, dem Pankreas und den Drüsen der Darmschleimhaut empfängt. Diese Drüsen aber sind gerade während des Verdauungsprocesses der Sitz sehr starker Stoffwechsel- und Oxydationsvorgänge.

Sur la formation de méthylmercaptan par fusion de l'albumine avec la potasse caustique

par

N. Sieber et **G. Schoubenko.**

Arch. des sciences biologiques **I**, 315.

Le méthylmercaptan, de même que l'indol et le scatol, est un produit constant de la putréfaction des matières albuminoïdes. Le Dr. L. Nencki[1]), de Varsovie, l'a trouvé dans les excréments humains. Il y a déjà plusieurs années, M. le professeur M. Nencki[2]) a démontré qu'on peut obtenir les produits de la putréfaction des matières albuminoïdes (produits qu'il a découverts le premier), en décomposant l'albumine par la potasse caustique. Le fait que tous les produits de la putréfaction des matières albuminoïdes se retrouvent entre les produits de la décomposition de ces corps par la potasse caustique, lui a servi de base pour sa théorie des processus chimiques de la putréfaction. Cette analogie trouve sa raison, en ce que les transformations chimiques dans les organismes vivants, ainsi que la décomposition de l'albumine par fusion avec la potasse caustique, se composent de phénomènes simultanés de réduction et d'oxydation.

Il était intéressant de voir, si cette analogie se confirmerait, par rapport à la formation de méthylmercaptan, en d'autres termes, si la fusion de l'albumine avec la potasse caustique donnerait lieu à la formation de ce gaz. Nos expériences sur ce sujet ont donné des résultats positifs.

20 g d'albumine d'oeuf ont été fondus avec 200 g de potasse caustique, dans l'appareil décrit par M. Liebermann[3]). La capsule contenant l'albumine et la potasse caustique a été chauffée au bain de paraffine liquide (Paraffinum liquid. du commerce) jusqu'à 250—280°, pendant $^3/_4$ d'heure à 1 heure. Après refroidissement on a dissous la masse dans l'eau.

250 g d'acide oxalique ont été introduits, avec un peu d'eau, dans un grand ballon, muni d'un bouchon en caoutchouc, percé de deux trous: l'un pour un entonnoir à robinet, l'autre pour un tube recourbé et communiquant avec le refrigérant.

---

[1]) Wiener Monatshefte für Chemie **10**, 862. — Dieser Band S. 117.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. **17**, 97. — Nencki's Opera omnia **1**, 370.

[3]) Ber. **21**, 2528.

L'autre bout du refrigérant a été mis en communication, au moyen d'un tube de caoutchouc, avec un ballon vide muni de deux tubes (d'entrée et de sortie), destiné à retenir les produits qui passent avec les vapeurs d'eau, tels que l'indol, le scatol et autres. Le tube de sortie du ballon vide a été réuni à deux ballons, remplis d'une solution à 3 % de cyanure de mercure, devant absorber le méthylmercaptan. On procède ainsi: on chauffe le ballon contenant l'acide oxalique, et on y verse, peu à peu, par l'entonnoir à robinet, la solution alcaline des produits de la décomposition d'albumine. Après quelque temps, les bulles de gaz commencent à barboter dans le cyanure de mercure et y forment un dépôt vert, composé de SHg et de $(CH_3S)_2Hg$. On filtre le dépôt, on lave, on décompose par l'acide chlorhydrique; on fait passer le mercaptan pur, mis en liberté, dans une solution de $(C_2H_3O_2)_2Pb$, et on obtient les cristaux jaunes caractéristiques de la combinaisons du méthylmercaptan avec le plomb.

Dosage du plomb à l'état de sulfate: 0.0510 g de substance ont donné à la calcination 0.0513 g de sulfate de plomb, soit 68.66 %. La formule $(CH_3S)_2Pb$ exige 68.77 % de plomb.

Nous avons traité, par ce même procédé, d'autres corps albuminoïdes: la caséine, la gélatine et le gluten, ce dernier provenant de la farine de froment.

Le blanc d'oeuf donne le plus de méthylmercaptan et d'hydrogène sulfuré; ensuite viennent le gluten, la caséine, et enfin la gélatine.

La décomposition des matières albuminoïdes, par fusion avec la potasse caustique, présente encore un certain intéret, en ce qu'elle peut nous aider à éclairer la structure moléculaire des matières albuminoïdes, en déterminant le rapport entre le méthylmercaptan et l'hydrogène sulfuré, qui se forment pendant cette décomposition.

A cet effet, nous avons fait l'expérience suivante: nous avons fondu 100 g d'albumine d'oeuf, de caséine, de gluten et de gélatine avec une quantité 10 fois plus grande de potasse caustique; nous avons acidulé avec de l'acide oxalique et nous avons fait passer les gaz qui se dégageaient, par une solution à 5 % d'acétate de plomb. Le résidu, acidulé par l'acide acétique, a été lavé avec une faible solution de ce même acide, pour éliminer le carbonate de plomb. Ensuite, ayant séché jusqu'à poids constant sur l'acide sulfurique, le résidu composé de PbS et de $(CH_3S)_2Pb$, nous avons déterminé sa teneur en plomb, à l'état de sulfate. Sur 100 parties de $(CH_3S)_2Pb$ prises pour le dosage, nous avons obtenu 77 % de PbS; la perte en poids à la calcination était de 33 p. cent. D'après ce résultat, nous avons calculé la quantité de méthylmercaptan et d'hydrogène sulfuré que contenait le mélange de PbS et de $(CH_3S)_2Pb$.

Voici les chiffres que nous avons obtenus:

100 g d'alb. d'oeuf	ont donné	0.3548 g	de CH_3SH et	0.2734 g	de SH_2.	$CH_3SH : SH_2 =$ 1.29 : 1
100 „ de gluten	„	0.1997 „	„	0.1257 „	„	„ 1.58 : 1
100 „ de caséine	„	0.0949 „	„	0.056 „	„	„ 1.69 : 1
100 „ de gélatine	„	0.0311 „	„	0.0148 „	„	„ 2.1 : 1

Ainsi, c'est la gélatine qui donne le moins de méthylmercaptan et d'hydrogène sulfuré; mais elle donne deux parties de méthylmercaptan pour une partie d'hydrogène sulfuré. Nous voyons en outre, qu'une partie seulement du soufre des substances

protéiques se dégage sous forme de méthylmercaptan et d'hydrogène sulfuré; car, d'après M. Hammarsten [1]), le blanc d'oeuf contient de 1.8 à 2.3 % de soufre, la caséine jusqu'à 0.78 %, la gélatine du commerce jusqu'à 0.74 %, et le gluten (composé, d'après les expériences de M. Ritthausen [2]), d'un mélange de glutencaséine, de glutenfibrine, de gliadine et de mucine) contient en moyenne 1 % de soufre.

La formation du méthylmercaptan, sous l'action de la potasse caustique, prouve qu'une grande partie du soufre des matières albuminoïdes s'y trouve à l'état de combinaison avec les radicaux organiques. Il est probable aussi que le méthylmercaptan n'est pas le seul produit organique, contenant du soufre, qui se forme pendant la putréfaction des corps albuminoïdes. Il est probable qu'on réussirait, en travaillant de grandes quantités d'albumines, à trouver encore d'autres combinaisons semblables.

Pendant la décomposition de l'albumine par la potasse caustique, le méthylmercaptan se combine avec cette dernière, et devient libre sous l'action des acides. M. Liebig, et son élève M. Bopp, avaient déjà remarqué que, dans la décomposition de l'albumine par la potasse caustique, l'odeur putride ne se faisait sentir que quand on acidifiait le mélange.

Ueber die Gährungen im menschlichen Dickdarm und die sie hervorrufenden Mikroben

von

J. Zumft.

Arch. des sciences biol. **1**, 497. — Nach dem Referate von Dr. Pruszyński abgedruckt. Maly's Jahresber. **22**, 306.

Um zu ermitteln, wie die Eiweisszersetzung durch die im Dickdarm des gesunden Menschen vorhandenen Bacterien in vitro verläuft, inficirte der Verf. mit kleinen Mengen frischer menschlicher Excremente sterilisirtes Fleisch oder Fleischpulver (30 Thle. Fleisch auf 100 Thle. Wasser und 10 bis 15 Thle. trockenes Fleischpulver auf 100 Thle. Wasser). Aus dem Kolben wurde die Luft durch CO_2 ausgetrieben. Nach dreitägigem Stehen bei Bruttemperatur sind 26 Proc. Eiweiss in Lösung gegangen. Die nach den Methoden von Nencki untersuchte Flüssigkeit enthielt Spuren von Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, vorwiegend Valerian- und Capronsäure und Spuren von Phenol, resp. aromatischer Oxyverbindungen. Die in einem anderen unter gleichen Bedingungen angestellten Versuche nach viertägiger Gährung entwickelten Gase bestanden in Volumprocent aus: CO_2, CH_3SH und SH_2 92.28 Proc., H 2.70 Proc., CH_4 3.36 Proc., N 2.68 Proc. Den N-Gehalt der Gase erklärt der

[1]) Beilstein, Organische Chemie **3** (zweite Auflage, 1890).

[2]) Ebenda.

Verf. dadurch, dass wahrscheinlich die Luft durch CO_2 nicht vollkommen ausgetrieben wurde, da in der am sechsten Tage gesammelten Gasmenge (durch KOH absorbirbare Gase 94.6 Proc., H 2.58 Proc., CH_4 2.28 Proc.), kein N mehr vorhanden war. Erst nach 12 tägiger Fäulniss konnte Indol und Skatol nachgewiesen werden, aber erst nach der vierwöchentlichen Gährung erhielt der Verf. neben grossen Mengen von CH_3SH und SH_2 mehr als 0.1 Proc. Skatol und Indol von dem angewandten Eiweiss. Aromatische Oxysäuren wurden in Substanz nicht erhalten, und auch nach vier Wochen ist ein grosser Theil des Eiweisses nicht in Lösung gegangen. Es geht aus diesen Versuchen die schon öfters constatirte Thatsache hervor, dass bei Luftabschluss die Gährung des Eiweisses viel langsamer verläuft, denn bei seinen früheren Versuchen fand Nencki[1]) nach 14 tägiger Dauer, dass 72.9 Proc. des Eiweisses durch die Mikroben zersetzt wurden. Aehnlich wie hier in vitro, findet wohl der Vorgang im menschlichen Dickdarme statt und wir sind berechtigt anzunehmen, dass auch bei der Umwandlung des Speisebreies im Dickdarm mehr die Verdauungssäfte, als die darin vorhandenen Spaltpilze betheiligt sind.

In dem morphologischen Theile seiner Arbeit beschreibt der Verf. einen aus den menschlichen Fäces isolirten Mikroben, welcher aus Eiweiss viel CH_3SH, SH_2, Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren, aber kein H oder CH_4 bildet. Dieser Mikrobe wächst facultativ anaërob, ist beweglich, verflüssigt langsam Gelatine und ist pleomorph, indem er auf Agar lange Filamente und kurze Stäbchen, in Bouillon nur letztere bildet. Vom Proteus vulgaris Hauser's unterscheidet er sich durch das Fehlen von Wandercolonien und den Mangel pathogener und toxischer Eigenschaften.

Ein Apparat, um Flüssigkeiten bei niederer Temperatur keimfrei abzudampfen

von

S. Dzierzgowski und **L. Rekowski.**

Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **11**, 685. — Nowiny lekarskie (1892), No. 7. — Nach dem Referate von Dr. B. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. **63**, II, 226.

Der von den Verff. construirte Apparat gestattet, wässerige Lösungen von 23° C. ab bei beliebigen Temperaturen innerhalb kurzer Zeit im Vacuum abzudampfen, und besitzt den Vortheil, dass auch die keimfrei filtrirten Culturflüssigkeiten in ihm tagelang keimfrei bleiben. Er besteht aus einem conischen, gläsernen Gefässe von 3 bis 4 Liter Inhalt, in dessen breiter, nach oben gekehrter Basis zwei Tuben angebracht sind. Eine ähnliche Oeffnung befindet sich in der Spitze des nach unten gerichteten Conus. Das Gefäss steht in einem seiner Gestalt angepassten Wasserbade aus Messing mit zwei gegenüberliegenden Fenstern, durch die man die der

---

[1]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Nencki's Opera omnia **1**, 181.

Destillation unterworfenen Flüssigkeitsmengen beobachten kann. Die Temperatur im Wasserbade wird durch ein Thermometer und Thermoregulator controlirt. Das conische Destillationsgefäss ist sowohl mit einer Chamberlandkerze, die in einem mit der zu filtrirenden Flüssigkeit gefüllten Cylinder steht, als auch mit einem Liebig'schen Kühler verbunden. Letzterer mündet in eine mit drei Tuben versehene und mit einem Manometer armirte Wulf'sche Flasche; diese ist durch eine eingeschaltete Wulf'sche Flasche mit zwei Tuben mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Die Pumpe ist eine „Stachelsaugpumpe" von der Firma J. Rütings & Co. (Petersburg) und evacuirt den 7 Liter Luft enthaltenden Apparat in 12 bis 15 Minuten bei einem Wasserdrucke von nur $^1/_3$ Atm. Vor dem Gebrauche wird das Destillationsgefäss mit Sublimatlösung, dann mit Alkohol und Aether ausgewaschen, und die Oeffnungen mit den sterilisirten Gummistopfen verschlossen. Die zu destillirende Flüssigkeit wird in den mit der Chamberlandkerze versehenen Cylinder gebracht und durch die Evacuirung des Apparates selbstthätig in das Destillationsgefäss eingesaugt.

Um die von ihrer Culturflüssigkeit getrennten Bacterienleiber zu gewinnnen, benutzen Verff. ein Filter, welches aus einem an beiden Seiten offenen Glascylinder besteht, welcher an seinem unteren Theile in eine Röhre ausgezogen ist, und dessen Wände unweit des Bodens an drei in derselben Ebene stehenden Punkten eingekerbt sind. Diese Einkerbungen dienen als Stütze der im Cylinder steckenden Chamberlandkerze, welche oben herausragt und hier durch einen Gummiring an den Cylinder gedichtet ist. Die zu filtrirende Flüssigkeit wird in die Kerze hineingegossen.

Untersuchungen über die Umwandlung von Nährstoffen durch die Diphtheriebacillen und über die chemische Zusammensetzung dieser Mikroben

von

S. Dzierzgowski und **L. Rekowski.**

Arch. des sciences biol. I, 167. — Nowiny lek[illegible] (1892), No. 6 und 7. — Nach dem Referate von [illegible] Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. [illegible]

Verff. nahmen für ihre Versuche eine Lösung von 160 g Pepton Cha[illegible] (dieses enthält 51.9 Proc. in Alkohol lösliche Peptone) auf 8 Liter Wasser [illegible] irgend einen anderen Zusatz. Nach sechswöchentlichem Aufenthalt dieser [illegible] Diphtheriebacillen inficirten Lösung im Brutschrank wurde durch Chamber[illegible]kerzen filtrirt und destillirt. Ausser einer Spur Milchsäure wurden weder [illegible] Säuren, noch aromatische Oxysäuren, noch Indol, Skatol, Leucin, Tyrosin, Ca[illegible] gefunden. Die Milchsäuremenge betrug als Zinksalz 0.5762 g für zwei Liter B[illegible] Die Albumosen des Pepton Chapoteau werden nur wenig von den Diphtherieba[illegible] zersetzt, diese leben ausschliesslich von dem in Alkohol löslichen Pepton des [illegible]

parates. Sie bilden daraus stickstoff- und kohlenstoffärmere, dagegen an Sauerstoff und Wasserstoff reichere Körper. Diese Art der Zersetzung ist vielleicht die Ursache der toxischen Wirkung der noch nicht durch den Lebensprocess der Mikroben zersetzten Albumosen. Es ist wahrscheinlich, dass diese Bacterien für ihre Existenz nicht nur stickstoffhaltige Substanzen, sondern auch Kohlehydrate bedürfen; da sie die letzteren nicht in der Bouillon Chapoteau finden, zersetzen sie die Albuminoide, indem sie Ammoniak und dessen Derivate abspalten und die Albumosen giftig machen. Diese Ansichten stützen sich auf die Thatsache, dass die Giftigkeit der Culturen mit ihrem Alter und dem Alkalitätsgrade wächst, nachher aber wieder abnimmt; wahrscheinlich fällt die Giftigkeitsgrenze mit der gebildeten NH_3-Menge zusammen, welche letztere die giftigen Albumosen zersetzt. Die Bacterienproducte, welche auf traubenzuckerhaltigen Nährböden sich bilden, besitzen nur schwach toxische Kraft. Unter den in Alkohol löslichen Stoffen der Albumosen befindet sich auch eine N-frei, deren einfachste Zusammensetzung der Formel $C_2H_6O_2$ entspricht.

Setzte man den Nährböden noch Traubenzucker oder Dextrin oder Glycerin oder Fette hinzu, so konnte man im ersteren Falle Bernsteinsäure, Ameisensäure, Fleischmilchsäure wiederfinden; das Dextrin und das Fett waren nicht angegriffen, von Glycerin nur eine Spur verschwunden. Ihrer Zusammensetzung nach gleichen die Diphtheriebacillen sehr den Bacterien Erythema nodosum; sie enthalten: C 48.87 Proc., H 8.61 Proc., N 11.17 Proc., Asche 4.57 Proc., Aetherextract 1.62 Proc., Alkoholextract 2.24 Proc., Cellulose 28.01 Proc. und Albumin 63.40 Proc.

Während die von Brieger und Fränkel und Proskauer und Wassermann erhaltenen Diphtherietoxalbumine eine Trübung mit Ferrocyankalium und Essigsäure lieferten, thaten dies die von Verff. erhaltenen Substanzen nicht; dies liegt wahrscheinlich daran, dass die ersteren Peptonfleischbouillon, letztere das Pepton Chapoteau verwendet hatten. Aus dem gleichen Grunde haben wohl auch die Verff. 3 Proc. C mehr und 1 Proc. Schwefel weniger in den Toxalbuminen gefunden, als die vier Erstgenannten. Im Allgemeinen bekennen sich die Verff. zu der Ansicht, dass die durch Alkohol gefällten Albumosen mechanisch die Giftstoffe mitgerissen haben.

Beiträge zu der Biologie der Typhusbacillen

von

A. Blachstein.

Arch. des sciences biol. 1, 199 et 299. Zwei Mittheilungen. — Nach dem Referate von Dr. F. Roloff abgedruckt. Baumgarten's Jahresber. 8, 227.

Verf. constatirt einen Unterschied zwischen dem Bacillus typhi abdominalis und dem Bacterium coli darin, dass letzteres die Milch zur Gerinnung bringt, ersterer nicht. Den Hauptinhalt der ersten dieser Mittheilungen bildet das Verhalten der beiden Bacterienarten in glycosehaltigem Nährboden. Der Typhusbacillus

erzeugt darin weder Alkohol, noch flüchtige Säuren in merklicher Menge, dagegen eine linksdrehende Milchsäure in ziemlich geringer Menge, welche mit 2 Molekülen Krystallwasser ein rechtsdrehendes Zinksalz bildet. Das Bacterium coli commune producirt, nach gleichzeitig angestellten Analysen von Bischler, in diesem Nährmedium unter starker Gährung Aethylalkohol und Essigsäure, sowie reichliche rechtsdrehende Paramilchsäure. Beide Mikroben sind danach als verschieden zu betrachten.

Auf Grund der verschiedenen Milchsäureproduction theilt Verf. in der zweiten Mittheilung die Typhusbacillen, wie sie gewöhnlich zu Untersuchungen benutzt werden, in drei Kategorien: 1. alte, d. h. lange künstlich fortgezüchtete, 2. frisch aus der Milz der Typhusleiche, 3. aus dem Stuhl des Typhuskranken gezüchtete Culturen. Die ersten produciren sehr wenig, die zweiten mehr, die dritten am meisten Milchsäure, welche immer linksdrehend ist. Ein gleiches Verhältniss besteht zwischen diesen Kategorien bezüglich des Virulenzgrades; die beiden ersten Kategorien sind bereits abgeschwächt. Kein anderes im normalen menschlichen Darminhalt vorkommendes Bacterium bildet linksdrehende Milchsäure, es ist daher nicht anzunehmen, dass Typhus durch normale Fäces verbreitet werden könne. Dagegen hält es Verf. nicht für ausgeschlossen, dass der Typhusbacillus vielleicht ein normaler Darmbewohner bei unseren Hausthieren sei. Eine „Eberthisation" des Bacterium coli im Sinne von Arloing, Rodet und Roux vermochte Verf. trotz zahlreicher Versuche niemals zu constatiren. Bezüglich des Bacterium coli äussert er die Vermuthung dass dieses Bacterium gegenwärtig die gleiche Rolle in der Literatur spiele, welche früher das Bacterium termo gespielt hat.

Untersuchungen über die pathogenen Streptococcen

von

N. Sieber.

Arch. des sciences biol. I, 265. — Autoreferat.

In vorliegender Arbeit wurde festzustellen gesucht, ob die drei am häufigsten vorkommenden Streptococcenarten, nämlich der Streptococcus erysipelatos, der Streptococcus pyogenes und der Streptococcus scarlatinosus identisch oder von einander verschieden sind. Zu diesem Zwecke wurden die Zersetzungsproducte der Kohlehydrate, wie z. B. des Trauben- und Milchzuckers, später auch die der Eiweisskörper studirt, in der Voraussetzung, dass sich auf diese Weise ein beständiges und charakteristisches Merkmal für die eine oder die andere dieser Mikrobenarten finden liesse. Die Untersuchungen wurden zuerst in der Schweiz, in Bern, unter Mitwirkung von I. Salberg und B. Bernstein, später in St. Petersburg vom Verf. allein angestellt. Es waren also die Culturen, welche zur Untersuchung dienten, verschiedener Provenienz, d. h. schweizerischer und russischer. Als

Nährsubstrate kamen Fleisch- Pepton-Bouillon und einfache Pepton (Chapoteau)-abkochungen, in denen die erwähnten Zuckerarten meist in der Menge von 5 Proc. gelöst wurden, zur Anwendung; um die eventuell aus dem Zucker gebildeten Säuren zu neutralisiren, wurde dem Nährboden kohlensaurer Kalk hinzugesetzt. Nach vollführter Impfung wurde die Luft aus dem Kolben mittelst Kohlensäurestrom verdrängt. Nachdem die Culturen einen Monat im Thermostaten gestanden hatten, wurde die Untersuchung der Zersetzungsproducte nach dem von Prof. Nencki[1]) beschriebenen Verfahren ausgeführt.

Von dem Streptococcus erysipelatos wurden vier Culturen, zwei schweizerische und zwei russische, zur Untersuchung verwandt. Drei von ihnen, die beiden russischen und eine schweizerische, die von dem Verf. selbst aus einem Stück erysipelatös erkrankter Haut von einem Patienten aus der Klinik von Prof. Sahli in Bern isolirt worden war, ergaben identische Resultate: sie bildeten aus dem Traubenzucker stets ein und dieselbe optisch active Milchsäure, welche die Polarisationsebene nach rechts dreht und deren Zinksalz mit zwei Molekülen Krystallwasser krystallisirt und die Polarisationsebene nach links dreht. Die für die Krystallwasser- und Zinkbestimmung erhaltenen Werthe sind kurz folgende:

0.4611 g Substanz verloren bei 110° getrocknet 0.0539 g = 12.88 Proc. H_2O und hinterliessen nach dem Glühen 0.1348 g ZnO = 26.9 Proc. Zn.

0.1102 g Substanz verloren beim Trocknen 0.0144 g = 13.07 Proc. H_2O und gaben nach dem Glühen 0.0318 g ZnO = 26.64 Proc. Zn.

Die vierte, von Herrn Prof. Tavel bezogene Erysipelcultur bildete unter gleichen Verhältnissen aus dem Traubenzucker optisch inactive Milchsäure, deren Zinksalz mit drei Molekülen Krystallwasser krystallisirt, wie aus folgenden Zahlenangaben hervorgeht:

0.5645 g Substanz ergaben beim Trocknen 0.102 g = 18.13 Proc. Wasserverlust und hinterliessen beim Veraschen 26.86 Proc. Zn.

Bei mehrmaliger Wiederholung war das Ergebniss der Versuche stets das nämliche, d. h. die eine Cultur bildete stets optisch inactive Milchsäure, die drei anderen aber optisch active Milchsäure aus dem Zucker. Die Zuckerzersetzung war in keinem Falle eine vollständige; es war stets etwa nur die Hälfte desselben zersetzt, z. B. von 50 g etwa 20 oder von 75 g 45, nie mehr. Ausser der Milchsäure wurden Spuren flüchtiger Fettsäuren, von gasförmigen Producten nur die Kohlensäure gefunden.

Von dem Streptococcus pyogenes kamen zwei Culturen, eine schweizerische, aus Eiter gewonnene, und eine russische, von einem Scarlatinafalle isolirte, zur Untersuchung. In culturell morphologischer Hinsicht waren beide Culturen vollkommen identisch, Traubenzucker gegenüber verhielten sie sich jedoch verschieden. Die Cultur von schweizerischer Herkunft verhielt sich gegenüber Traubenzucker ganz negativ, d. h. sie entwickelte sich normal, zersetzte aber den Zucker nicht, bildete

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **10**, 532 und Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasit. **9**, 304. — Dieser Band S. 131 u. 180.

folglich kein Gas und keine Milchsäure. Die andere Cultur zersetzte von 75 g Traubenzucker 45.4 g, also etwas mehr als die Hälfte; als Zersetzungsproducte wurden ein Jodoformreaction gebender Körper, sowie flüchtige Fettsäuren in geringer Menge, ausserdem noch eine ätherlösliche, flüchtige Substanz, die sich unter Einwirkung von Mineralsäuren roth färbt, erhalten. Die entstandene Milchsäure war die optisch inactive, deren Zinksalz mit drei Molekülen Krystallwasser krystallisirt, was sich aus folgenden Zahlen ergiebt: 0.2615 g milchsaures Zink ergaben 18.16 Proc. H_2O und 26.8 Proc. Zn.

Die Cultur des Streptococcus scarlatinosus wurde von Herrn Prof. Tavel bezogen; sie war aus einem Abscess bei einem scharlachkranken Kinde isolirt worden. Sie war von den Erysipel- und Pyogenesculturen, was ihre Grösse anbetrifft, nicht zu unterscheiden, wohl aber culturell; sie erzeugte keine gleichmässige Trübung, sondern bildete in klarer Bouillon zusammenhängende Flocken. Aus 100 g Traubenzucker wurden unter ihrer Einwirkung 43 g optisch activer, rechtsdrehender Milchsäure erhalten. Abweichend von den beiden anderen Arten bildet sie auch noch Wasserstoffgas; auf 95.82 Proc. CO_2 kamen 4.18 Proc. H.

Ausserdem wurden die drei Streptococcenarten auf ihr Vermögen hin, Fette und zusammengesetzte Ester zu zerlegen und Toxine zu bilden, untersucht.

Gegenüber Fetten verhielten sich alle drei untersuchten Streptococcenarten negativ: sie waren unfähig, Fette zu zerlegen. Was aber die Spaltung der Ester anbetrifft, so stellte sich heraus, dass nur der letzte, d. h. der Streptococcus scarlatinae, das Vermögen besitzt, Salol im Laufe von 12 Stunden zu zerlegen (durch Eisenchloridzusatz erhält man die für Salicylsäure charakteristische violette Färbung). Nebenbei wurden auch andere, im Darmcanal vorkommende Mikroben auf ihre Fähigkeit hin, Ester zu zerlegen, geprüft und hierbei constatirt, dass im Laufe von 24 Stunden keine Zerlegung zu Stande kommt; der Typhusbacillus konnte das sogar im Laufe von 10 Tagen nicht.

Mittelst Ammoniumsulfat oder Alkohol ausgeschiedene Albumosen der Erysipel- und Pyogenesstreptococcen erwiesen sich als toxisch namentlich die erste; in kleinen Dosen riefen sie Temperaturerhöhung auf 1 bis 2°, in grösseren — Lähmungen hervor. Die zur Controle aus reiner Bouillon dargestellten Albumosen erwiesen sich hingegen als unwirksam. In wässeriger Lösung verhielten sich die Albumosen Reagentien gegenüber in folgender Weise:

1. Ferrocyankalium und Essigsäure erzeugt keinen Niederschlag, erst nach 24stündigem Stehen bilden sich Flocken.

2. Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäure geben reichliche Niederschläge.

3. Sublimat giebt schwache Trübung.

4. Basisches und neutrales essigsaures Blei bildet keine Niederschläge.

5. Salpetersaures Silber bildet nur in der Albumose des Streptococcus pyogenes Niederschläge.

6. Platinchlorid erzeugt in allen drei Albumosen Fällungen.

7. Sättigung mit ClNa und Cl_2Mg erzeugt keinen Niederschlag, wohl erhält man aber einen reichlichen Niederschlag mittelst $SO_4(NH_4)_2$.

8. Biuretreaction negativ.

Aus Traubenzuckerbouillonculturen konnten keine Albumosen erhalten werden, wohl aber aus Milchzuckerbouillonculturen und sogar, wie es schien, in grösserer Menge, wie aus Bouillonculturen allein.

Auf Grund des ungleichen Verhaltens der untersuchten Streptococcenarten zu dem Traubenzucker glaubt Verf. annehmen zu können, dass sie nicht identisch sind.

Ueber Mischculturen

von

M. Nencki.

Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk. 11, 225.

Hand in Hand mit den neuen bacteriologischen Methoden, die uns die Isolirung einzelner Spaltpilze in Reincultur gestatten, hat sich auch die chemische Forschung der Untersuchung der Gährungs- resp. Umwandlungsproducte des Nährsubstrates durch bestimmte, in Reincultur isolirte Mikroben zugewendet, und wenn wir uns die dadurch in den letzten 10 Jahren erzielten Resultate, wie z. B. die Aufklärung der Anaërobiose, der Nitrification, die Auffindung der zahlreichen Spaltungsproducte der Kohlehydrate und der Eiweissstoffe, die Ptomaine, Toxalbumose u. s. w. vergegenwärtigen, so sind sie gewiss als grossartig zu bezeichnen. In der biologischen Chemie herrscht jetzt die Bacteriochemie, und manche wichtige neue physiologisch-chemische Entdeckung, nur weil sie nicht bacteriologisch, muss auf ruhigere Zeiten warten, damit ihr die geziemende Beachtung und Würdigung zu Theil wird.

Mit der Auffindung eines für bestimmte Krankheiten als specifisch anerkannten Mikroben, seiner Lebensbedingung und Stoffwechselproducte sind wir jedoch häufig nicht im Stande, das gleiche Krankheitsbild experimentell hervorzurufen und zu erklären. Wären die Reinculturen so gefährlich, wie die Krankheiten, mit deren Namen wir die betreffenden Mikroben zu bezeichnen belieben, als z. B. Cholera-, Typhus-, Diphtheriebacillen u. s. w., so würde kein Bacteriologe so straflos mit diesen Mikroben umgehen dürfen, wie dies in den bacteriologischen Laboratorien üblich ist.

Im Folgenden will ich eine Thatsache hervorheben, die, weiter verfolgt, möglicherweise uns hierüber Aufklärung verschaffen wird.

Gelegentlich der Untersuchung über die Zersetzung des Eiweisses durch anaërobe Spaltpilze machte ich gemeinschaftlich mit N. Sieber die Beobachtung [1]), dass in den Tumoren der mit Rauschbrand inficirten Thiere ausser den Rauschbrandbacillen noch ein facultativ anaërober Mikrococcus sich findet, welcher Zucker unter Bildung der Paramilchsäure, deren Zinksalz das polarisirte Licht nach links dreht,

[1]) Vergl. hierüber Wiener Monatshefte für Chemie 10, 532. — Dieser Band S. 131.

zersetzt. Wir haben damals die Zersetzungsproducte des Zuckers sowohl durch diesen Mikrococcus, den wir Mikrococcus acidi paralactici nannten, als auch durch die Rauschbrandbacillen genau untersucht und gefunden, dass die Rauschbrandbacillen aus Traubenzucker unter Entwickelung von CO_2 und H_2 vorwiegend normale Buttersäure, dann Essigsäure und die optisch inactive Milchsäure bilden, während der Mikrococcus der Paramilchsäure fast die theoretische Menge, also die Hälfte des zugesetzten Zuckers in Paramilchsäure verwandelt. Aus Culturen der beiden Mikroben wurden stets nur Spuren Jodoform bildender Substanz erhalten.

Wurde nun die sterile Zuckerlösung statt mit den Reinculturen gleichzeitig mit Rauschbrandbacillen und dem Mikrococcus der Paramilchsäure inficirt, so verlief zunächst die Gährung bedeutend rascher, so dass bei Luftausschluss nach 10 Tagen 200 g des Zuckers vollkommen zersetzt wurden, sodann aber enthielt die vergohrene Flüssigkeit ausser den den beiden Mikroben eigenthümlichen Spaltungsproducten, nämlich der optisch activen und inactiven Milchsäure, der Buttersäure und Essigsäure, noch in reichlicher Menge normalen Butylalkohol, so dass an Rohproduct 13 ccm davon erhalten wurden.

Der Versuch ist deshalb sehr interessant, weil er zeigt, dass bei gleichzeitiger Einwirkung zweier Mikroben auf das gleiche Nährsubstrat ein neues Product entstanden ist, das keines der beiden Spaltpilze für sich allein zu bilden vermochte.

Fälle von Mischinfectionen und Symbiose sind in der Literatur mehrfach verzeichnet, aber man hat nicht beachtet, dass bei Mischculturen die Zersetzungsproducte des gleichen Nährsubstrates nicht allein quantitativ, sondern auch qualitativ andere sein können. Der Cholerabacillus genügt nicht, um typische Choleraerkrankung hervorzurufen, trotz der heroischen Kunstmittel, wie Morphium, Sodainjectionen, Entfernung der Galle u. s. w., und die Annahme liegt nahe, dass es dazu noch eines anderen bestimmten Mikroben bedarf, der dem Kommabacillus die toxische Substanz zu bilden hilft, ähnlich wie in unserem Versuche der Mikrococcus der Paramilchsäure dem Rauschbrandbacillus den Butylalkohol. In den Mischculturen liegt, wie ich glaube, der zweite gesuchte Factor bei den früher als contagiös miasmatisch bezeichteten Krankheiten. Ist einmal durch eine Mischcultur eine Mischinfection eingeleitet, so ist wohl möglich, dass einer der concurrirenden Spaltpilze, dem die vorhandenen Bedingungen am besten zusagen, die anderen überwuchert und so später in dem diphtheritischen Belage oder den Reiswasserstühlen nur ein einziger Mikrobe fast in Reincultur erscheint. Bei der einen Gruppe von Erkrankungen wirken, wie dies Dr. T. Dunin[1]) in seinem Vortrage hervorgehoben, zwei oder mehrere Mikroben, um klinisch ein einheitliches Bild zu erzeugen, bei einer anderen verursacht ein einziger Mikrobe die Erkrankung und die anderen bedingen die Complicationen.

Es sind auch seither in meinem Laboratorium Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweisses und der Kohlehydrate durch solche Spaltpilze unternommen worden, wo die Wirkung auf das Nährsubstrat eines jeden für sich genauer untersucht wurde, so namentlich der notorisch als pathogen bekannten Spaltpilze mit den am häufigsten bei den Mischinfectionen aufgefundenen Coccenarten, da jedoch das

[1]) Congress polnischer Aerzte und Naturforscher in Krakau vom Juni 1891, referirt in Gazeta Lekarska und dem Centralbl. f. Bact. und Parasitenk. **11**, 25.

Untersuchungsfeld sehr gross ist und keineswegs von uns allein bearbeitet werden kann, so ist der Zweck der vorliegenden Mittheilung, nur die allgemeinen, uns bei unseren Versuchen leitenden Gesichtspunkte zu charakterisiren. Will man bei diesen Untersuchungen rationell und systematisch verfahren, so ist es eine unerlässliche Bedingung, die Zersetzung der Kohlehydrate und des Eiweisses durch einen jeden der zur Mischcultur verwendeten Mikroben zu kennen; solche Untersuchungen aber erfordern viel Zeit und Mühe.

Ich bin der Ansicht, dass das auch in der Grossindustrie herrschende Bestreben, die alkoholische Gährung durch Reinculturen einzelner Hefearten einzuleiten, mit der Zeit einer anderen Richtung Platz machen wird. Ich habe wiederholt gesehen, dass sterile Traubenzuckerlösung, mit zwei bestimmten Spaltpilzen gleichzeitig inficirt, viel rascher und energischer zersetzt wurde, als wie durch jeden der beiden Spaltpilze allein. Es wird vielleicht möglich sein, durch Impfen mit zwei oder mehreren bestimmten Hefearten aus zuckerhaltigen Säften nicht allein die bestmögliche Alkoholausbeute zu erzielen, sondern auch der vergohrenen Flüssigkeit einen bestimmten Geschmack und Bouquet zu verleihen. Es ist Thatsache, dass durch lange fortgesetzte Ueberimpfung der Reinculturen sowohl die Gährtüchtigkeit als auch die Virulenz pathogener Mikroorganismen abgeschwächt wird, und der Gedanke liegt nahe, dass durch Mischculturen, wo die Mikroben wieder unter mehr natürliche Verhältnisse gebracht werden, auch ihre Leistungsfähigkeit in den beiden obigen Richtungen von Neuem erstarken kann. Andererseits habe ich beobachtet, dass Reinculturen zweier Mikroben, von denen jeder z. B. Eiweiss energisch zersetzte, gleichzeitig in die gleiche Eiweisslösung übergeimpft, in ihrer Gährtüchtigkeit sich merklich abgeschwächt zeigten und manchmal nach einigen Tagen die Gasentwickelung und Eiweisszersetzung gänzlich aufhörte. Wir können mit Recht solche Erscheinungen, im Gegensatz zur Symbiose, als Enantiobiose bezeichnen. Ihr Endeffect kann sein: das Aufhören jeder Gährung oder auch des Lebens der sich gegenseitig schädigenden Mikroben.

St. Petersburg, 15. Januar 1892.

Ueber Mischculturen von Streptococcen und den Diphtheriebacillen

von

M. Schreider.

Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk. **12**, 289. — Inaug.-Diss. St. Petersburg. — Nach dem Referate von Dr. A. Samojloff abgedruckt. Maly's Jahresber. **23**, 653.

Verf. untersuchte den gegenseitigen Einfluss des Streptococcus und des Diphtheriebacillus von Klebs-Löffler bei gleichzeitigem Wachsthum dieser Organismen auf Nährböden und bei Infection von Thieren. Zu den Versuchen wurden reine Culturen von erysipelatösen und eitererregenden Kettencoccen gebraucht, die direct von Kranken

stammten; die Diphtheriebacillen wurden durch Ueberimpfen von reinen Culturen aus dem Laboratorium von Prof. Nencki erhalten. Was die Einwirkung der Mikroben auf Zucker anbetrifft, so bilden die Diphtheriebacillen und Kettencoccen bei gleichzeitiger Anwesenheit mehr Milchsäure, als die reinen Culturen Mikroorganismen jede für sich allein.

	Menge des zersetzten Traubenzuckers	Menge des zersetzten $CaCO_3$	Menge des Zn-Salzes	Optische Eigenschaften der Milchsäure
Strept. pyogen.	1.22 Proc.	0.4038 Proc.	0.65	Inactiv
Strept. pyogen. + Diphth. . . .	1.87 „	0.4425 „	0.72	Rechtsdrehend
Diphth.	1.06 „	0.3792 „	0.43	Rechtsdrehend
Strept. Erysipel.	2.24 „	0.5825 „	0.74	Inactiv
Strept. Erysipel. + Diphth. . .	2.40 „	0.8426 „	1.17	Rechtsdrehend
Diphth.	2.10 „	0.7545 „	0.85	Rechtsdrehend

Auf Grund dieser Versuche lässt sich der Schluss ziehen, dass bei Einwirkung von Mischculturen der Klebs-Löffler'sche Bacillus die optisch inactive, von Kettencoccus gebildete Milchsäure zerlegt und dabei nur die rechtsdrehende Säure frei lässt. Verf. versuchte weiter die Frage über die Identität resp. Verschiedenheit der Einwirkung des Streptococcus pyogenes einerseits und erysipelatos andererseits auf Grund der optischen Eigenschaften der von den beiden gebildeten Säuren näher zu prüfen. Es ergab sich dabei, dass unter verschiedenen, nicht näher zu definirenden Bedingungen beide Mikrorganismen, sowohl die optisch, als auch die inactive Milchsäure zu erzeugen im Stande sind.

Inficirt man Thiere (Kaninchen und Meerschweinchen) mit Mischculturen der beiden genannten Krankheitserreger (Diphtheriebacillen und Kettencoccen), so erfolgt der Tod bedeutend rascher, als nach Infection mit reinen Diphtheriebacillen; falls die Virulenz dieser Bacillen schwach war, so wird sie durch gleichzeitige Infection des Thieres vermittelst der Kettencoccen verstärkt. Eine Differenzirung zwischen den beiden Arten des Kettencoccus liess sich auch in dieser Beziehung nicht feststellen. Was die durch Mischinfection hervorgerufenen anatomischen Veränderungen anbetrifft, so lassen sich letztere in zwei Gruppen eintheilen: die eine ist für den Diphtheriebacillus, die andere für den Kettencoccus charakteristisch. Die Erscheinungen, die der letztere hervorzurufen pflegt, sind bei der Mischinfection deutlicher ausgesprochen, als bei der Infection mit reinen Streptococcusculturen. Aus den durch Filtration von den genannten Mikroorganismen befreiten Bouillonculturen bekam Verf. nach Hinzufügen von Alkohol Eiweissniederschläge, die bestimmte virulente Eigenschaften besassen. Die Virulenz der Niederschläge, die aus den Mischculturen beider Mikroorganismen stammten, waren bedeutend giftiger als die Niederschläge reiner Diphtherieculturen; die Toxalbumine des Streptococcus riefen nur leichte Störungen und Temperatursteigerung hervor. Verf. kommt zum Schluss, „dass einige Arten des Streptococcus die Lebensäusserungen und die Virulenz des Diphtheriebacillus sowohl in vitro als auch im Organismus steigern".

Zur Frage über Choleraepidemie

von

M. Nencki.

Vortrag gehalten in der Gesellschaft russischer Aerzte am 3. December. — Труды общества русскихъ врачей, und Врачъ (1893), Nr. 1. — Aus dem russischen Referate übersetzt. — Ein Vortrag über dasselbe Thema wurde auch in der Gesellschaft Warschauer Aerzte am 10. Januar 1893 gehalten. — Gazeta Lekarska (1893), Nr. 2.

Zweck des Vortrages ist, die Aerzte von der Thätigkeit des Kaiserlichen Institutes für experimentelle Medicin während der Choleraepidemie des vergangenen Sommers in Kenntniss zu setzen.

Dank der unermüdlichen Fürsorge seines erlauchten Protectors, S. H. des Prinzen Alexander von Oldenburg, konnte das Institut gleich zu Beginn der Epidemie zwei temporäre praktische Abtheilungen, in Baku und in Astrachan, welche mit den nothwendigen Apparaten und Instrumenten ausgerüstet wurden, gründen. Diesen Abtheilungen werden nicht nur die bisher üblichen Medicamente und Heilmittel, sondern auch eine ganze Reihe neuerer zur Verfügung gestellt.

Von den Doctoren Blachstein und Schubenko[1]) angestellte bacteriologische Untersuchungen wiesen nach, dass an der Cholerainfection nicht nur der Kommabacillus, sondern auch andere Mikroben theilnehmen. Bei der zuerst in Baku und dann später auch hier in St. Petersburg vorgenommenen Untersuchung der Dejectionen von Cholerakranken fanden Dr. Blachstein und Schubenko in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle von Choleratyphoid, zuweilen auch bei typischen Choleraanfällen drei Arten kurzer Stäbchen, welche von ihnen als Bacillus caspicus α, β_1 und β_2 bezeichnet wurden.

Der Bacillus caspicus α verflüssigt die Gelatine nicht; er ist von dem Bacillus coli communis und dem Typhusbacillus sehr schwer zu unterscheiden.

Der Bacillus caspicus β_1 kommt hauptsächlich bei Choleratyphoid, zuweilen jedoch auch bei typischer Cholera vor. Dieses Stäbchen verflüssigt die Gelatine.

Der Bacillus caspicus β_2 wurde aus dem Dünndarminhalt eines an typischer Cholera Gestorbenen isolirt; er verflüssigt die Gelatine, wie auch das vorhergehende Stäbchen, von dem er sich überhaupt wenig unterscheidet; möglicherweise sind beide Arten identisch.

---

[1]) Нѣсколько бактеріологическихъ наблюденій по этіологіи холеры, Врачъ (1892), Nr. 41. Ausserdem wurden noch folgende Arbeiten betreffend Beobachtungen über Choleraepidemie publicirt: Замѣтки о минувшей холерной эпидеміи и о способахъ борьбы съ нею на заводѣ Товарищества Братьевъ Нобель въ г. Баку, Бляхштейнъ и Шубенко, Врачъ (1892), Nr. 51. — Von der Choleraepidemie an der Wolga von M. Hahn, Berliner klin. Wochenschrift (1892), Nr. 38.

Dr. Blachstein fand, dass die subcutane Injection von mit dem Darminhalt der Cholerakranken inficirter Bouillon nach 24 bis 36 Stunden den Tod von Mäusen und Kaninchen zur Folge hat. Dagegen tödten Reinculturen der Kommabacillen und der drei oben erwähnten Arten des Bacillus caspicus, subcutan injicirt, die Thiere nicht.

Diese Beobachtungen stehen mit den früheren Beobachtungen von Bouchard vollkommen im Einklang.

Dr. Blachstein fertigte künstliche tödtliche Bacteriengemische, in denen der Kommabacillus mit einer der oben erwähnten Arten des Bacillus caspicus gepaart war, an. Diese Mischculturen waren in der Weise hergestellt, dass entweder mit dem Kommabacillus eine eintägige Cultur eines der obengenannten Bacillen inficirt wurde oder aber einer dieser Bacillen auf eine Choleracultur übergeimpft wurde. Es wurde constatirt, dass im ersten Falle stärker wirkende Gemische resultirten. An Mäusen angestellte Versuche führten stets zu einheitlichen Resultaten. Sie illustrirten aufs Trefflichste den allgemein gültigen Satz, dass der Kommabacillus in Gemeinschaft mit einer ganzen Reihe von Mikroben Mäuse tödten kann, während Reinculturen des Kommabacillus, sowie auch der anderen Mikrobenarten zu einem negativen Ergebniss führen. Alle drei isolirten Bacterienarten riefen in Gemeinschaft mit dem Cholerabacillus den Tod von Mäusen hervor. Der Bacillus caspicus α tödtet in Gemeinschaft mit dem Choleravibrio Kaninchen und Tauben, der Bacillus β_2 nur Mäuse und Meerschweinchen.

Die Menge der subcutan injicirten Mischcultur betrug für Mäuse gewöhnlich 0.1 ccm, für Kaninchen 2 ccm. Der Tod trat rasch, gewöhnlich schon im Laufe von 24 Stunden ein.

Dr. Blachstein ist es in Gemeinschaft mit Dr. Zumft[1]) gelungen, aus dem Wasserleitungswasser zu St. Petersburg ein Bacterium zu isoliren, welches an und für sich ganz unschädlich ist, mit dem Kommabacillus aber zusammen Thiere tödtet. Sehr interessant ist der Versuch mit dem Cholerabacillus und einem aus dem Darminhalt der Kuh gewonnenen Bacillus coli communis; ein Gemisch beider Bacterien tödtete Tauben. Hierbei verdient noch erwähnt zu werden, dass der Kommabacillus sehr gut in einer Reincultur der eben erwähnten Colibacillusart gedeiht und diesen sogar allmählich verdrängt, so dass dieser letztere nach acht Tagen gewöhnlich ganz aus der Cultur verschwindet. Was die übrigen Gemische anbetrifft, so konnte nachgewiesen werden, dass der in eine Reincultur des Bacillus caspicus α übergeimpfte Kommabacillus im Laufe von 36 bis 48 Stunden ganz und gar verschwindet, in einer Cultur des Bacillus casp. β zu Anfang üppig wuchert, dann aber allmählich in seinem weiteren Wachsthum stehen bleibt, so dass er nach 2 bis 3 Tagen von dem mit ihm concurrirenden Bacillus ganz und gar verdrängt wird.

Eine Fortpflanzung des Kommabacillus im Thierkörper konnte nicht constatirt werden; nur ein einziges Mal ist es gelungen, bei der Impfung aus der Injectionsstelle die Cultur der Kommabacillen zurück zu erhalten.

Vortragender behauptet, dass weder Koch noch auch seine Schüler die Be-

[1]) Siehe unten.

deutung der bei der Cholera ausser dem Kommabacillus zu beobachtenden Mikroorganismen in genügender Weise gewürdigt haben. Augenscheinlich verstärken die anderen Bacterien in irgend welcher Weise die Wirkung des Cholerabacillus. Vortragender zweifelt nicht, dass, wenn Pettenkofer und Emmerich nicht eine Reincultur des Kommabacillus, sondern eines der oben genannten Gemische verschluckt hätten, sie nicht mit einer leichteren Form der Choleraerkrankung davongekommen wären.

In therapeutischer Hinsicht machte Vortragender die Aerzte auf das β-Naphtolwismuth aufmerksam, dessen Anwendung im ersten Cholerastadium sich als recht nützlich erwiesen hat. Die physiologische Untersuchung der Wismuthphenolverbindungen hat erwiesen, dass das Phenol-, m-Kresol- und β-Naphtolwismuth, welche bis zu 80 Proc. Wismuthoxyd enthalten, in dem Darmtractus in ihre Bestandtheile zerfallen. Das freiwerdende Phenol wird resorbirt und mit dem Harn ausgeschieden, während das gesammte Wismuth mit den Excrementen abgeht und höchstens der tausendste Theil desselben in den Harn übergeht.

Es kann bis jetzt noch nicht endgültig entschieden werden, worauf die therapeutische Wirkung des Phenolwismuths und analoger Verbindungen bei Darmstörungen begründet ist [1]). In Anbetracht des Befundes, dass Wismuthsalze mit Eiweisskörpern — Albumosen, Alkaloiden und Ptomaïnen — unlösliche Verbindungen bilden, kann man annehmen, dass das im Darme freiwerdende Wismuth sich mit den Bacterienproducten — Toxalbumosen und Ptomaïnen — zu unlöslichen und in Folge dessen unresorbirbaren Substanzen verbindet, wodurch deren giftige Wirkung aufgehoben wird. Da sämmtliche Wismuthphenolverbindungen in Wasser unlöslich sind, so können sie als antiseptische Mittel nur in Pulverform verwandt werden. Diese Eigenschaft kommt hauptsächlich dem m-Kresolwismuth zu.

Vortragender empfiehlt bei Darmerkrankungen, deren Zahl sich gewöhnlich im Frühjahr vermehrt, diese neuen Präparate im Auge zu haben, um so mehr, als die Wismuthphenolate ungiftig sind und, wie die Experimente an Hunden gezeigt haben, gut vertragen werden; sogar bei längerem Gebrauch in Dosen von 4 bis 10 g täglich.

Auf Wunsch S. H. des Prinzen Alexander von Oldenburg wurden an dem Institut Desinfectionscurse gegründet. Ein jeder Cursus dauerte fünf Tage; im Laufe dieser Zeit wurden die Zuhörer in populärer Form mit den theoretischen Principien der Desinfection und mit der Desinfectionspraxis bekannt gemacht. Auf diese Weise wurden in kurzer Zeit bis an 500 Desinfectoren vorbereitet.

Ausserdem wurden an dem Institut Untersuchungen über die Gewinnung von reinem, bacterienfreiem Wasser angestellt. Es versteht sich von selbst, dass die Kohlenfilter den gegenwärtigen Anforderungen der Bacteriologie durchaus nicht entsprechen. Vor Kurzem hat der Ingenieur Berkefeld einen Wasserfilter aus sog. „Kieselguhr" oder „Infusorienerde", der nicht einmal die kleinsten Mikroben hindurchpassiren lassen soll, erfunden. Dr. Dzierzgowski [2]) untersuchte diesen

---

[1]) Mit dieser Frage ist im chemischen Laboratorium des Institutes Dr. Jasieński beschäftigt. Siehe unten.

[2]) Siehe unten.

Filter und fand, dass man, wenn man ihn rein hält, mit ihm ganz reines, bacterienfreies Wasser erhalten kann. Vor der Chamberlandkerze hat dieser Filter den Vorzug, dass die Wasserfiltration durch ihn bedeutend rascher von statten geht. Die Berkefeld'schen Filter sind in St. Petersburg fast zu demselben Preise zu haben wie die Chamberlandkerzen.

Gleich zu Beginn der Choleraepidemie machte sich in Russland ein Mangel an den gebräuchlichsten Desinfectionsmitteln, wie z. B. Sublimat, Carbolsäure u. s. w., fühlbar. Dieser Umstand bewog das Institut, nach einem Desinfectionsmittel zu forschen, welches sich Jedermann leicht verschaffen könnte.

Birken- (pix betulae) und Fichtentheer (pix pini sylvestris) bildet schon seit Langem ein Product der russischen Industrie. Aus früheren Arbeiten von Reichenbach, Marasse, Tiemann und Hoffmann über den Bestand des Buchsbaumtheers (pix fagi) ging hervor, dass er vor Allem Phenolhomologe: Kresol, Xylenol, Kreosol, Guajacol, Dimethylpyrogallol und Propylpyrogallol, welche antiseptische Eigenschaften besitzen, enthält. Dr. Jäger in Deutschland und in Russland die Doctoren Winogradow, Woronzow und Kolesnikow, welche alle drei im Laboratorium von Prof. N. Iwanowski arbeiteten, haben schon vor einigen Jahren die antiseptische Wirkung des Holztheers untersucht. Im vorigen Jahre erschien die Arbeit von M. Pfrenger, welcher fand, dass der bei niedriger Temperatur siedende und im Handel unter dem Namen Oleum betulinum rectificatum aethereum bekannte Theil des Birkentheers etwa 40 Proc. Phenole, welche hauptsächlich aus Guajacol, Kreosol, Xylenol, Kresol und Spuren von gewöhnlichem Phenol bestehen, enthält. Die chemische Untersuchung von Fichtentheer, welche gegenwärtig noch bei Weitem nicht beendet ist und deren ausführliche Ergebnisse mit der Zeit veröffentlicht werden sollen, ergab sehr interessante Befunde. Es fand sich nämlich, dass der Fichtentheer, welcher doppelt so billig ist wie Birkentheer, diesen um das Doppelte an desinficirender Kraft übertrifft. Der Grund hierfür liegt darin, dass der bei hoher Temperatur siedende Theil des Fichtentheers saure Reaction besitzt; im Birkentheer hingegen wiegen Paraffine vor; überhaupt ist der Fichtentheer reicher an antiseptisch wirkenden Phenolhomologen als wie der Birkentheer. Die bei 220° C. destillirbaren Fichtentheerphenole bestehen ausser dem Kresol aus Guajacol, Methylguajacol oder Kreosol, Dimethylguajacol und Propylguajacol.

In seinem Vortrage berührte Prof. Nencki die desinficirenden Eigenschaften des Theers nur beiläufig. Die von seiner Assistentin, Dr. N. Sieber, unternommenen bacteriologischen Untersuchungen werden bald in extenso veröffentlicht werden. Sie wurden an dem käuflichen Theer in seiner natürlichen Gestalt und an seinen Destillationsproducten angestellt; im letzteren Falle wurde der Theil untersucht, welcher bei 220 bis 225° C. siedet. Hierbei erwies sich, dass es bedeutend bequemer und billiger ist, den Theer nicht mit Aetzlaugen und Soda oder Kalkwasser zu lösen, wie das von dem Vortragenden früher empfohlen wurde, sondern desinficirende Lösungen zu bereiten, indem man irgend eine Sorte von Theer mit kochendem Wasser versetzt, wobei das Gemisch sorgfältig zu schütteln und zu vermengen ist. Das auf diese Weise hergestellte frische Wassertheergemisch kann entweder sofort unabgekühlt in Gebrauch genommen werden oder muss, wenn Gegenstände desinficirt

werden sollen, welche durch den Theer verdorben werden könnten, zuvor bis auf Zimmertemperatur abgekühlt und sogar filtrirt werden.

Zur Erprobung der desinficirenden Kraft eines aus 1 Theil Theer und 20 Theilen Wasser bestehenden Gemisches wurden verwandt: 1. eine reine Cultur von Kommabacillus, 2. eine Mischcultur von Kommabacillus und Darmbacterien, 3. eine Typhuscultur und 4. eine Cultur des Staphylococcus pyog. aureus. Es waren sämmtlich zwei- bis dreitägige, bei 37° C. aufgewachsene Culturen. Jedes Probirglas wurde mit so viel Theerwasser versetzt, als es Bouillon enthielt, dann das Ganze umgeschüttelt und sofort aus diesem Probirglas in sterilisirte Bouillon übergeimpft. Im Laufe der ersten halben Stunde wurde alle 2 Minuten eine Aussaat gethan, im Laufe der nächsten 2 Stunden alle Viertelstunde und dann noch im Laufe von 6 bis 7 Stunden allstündlich.

1. Eine mit einer gleichen Quantität Fichtentheerwasser versetzte Cultur von Kommabacillus ging nach 5 bis 10 Minuten zu Grunde.

2. Eine Mischcultur aus Cholera- und Darmbacterien nach 30 bis 45 Minuten.

3. Eine Typhusreincultur nach 15 bis 30 Minuten.

4. Eine reine Cultur von Staphylococcus pyogenes aureus nach 10 bis 30 Minuten.

Der gegen äussere Einwirkungen empfindliche Kommabacillus geht also fast zehnmal so rasch zu Grunde, als wie die anderen im Darme vorkommenden Bacterien. So war in Mischculturen aus dem Darminhalte eines Cholerakranken, wie Gelatineplattenculturen bewiesen, der Cholerabacillus in einigen Minuten zu Grunde gegangen, während die Darmbacterien dazu $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden brauchten.

Vortragender betont, dass das aus Fichten- oder Birkentheer und kochendem Wasser bereitete Gemisch sofort angewandt werden muss; hat es aber 3 bis 4 Tage gestanden und sind die Theerpartikelchen alle zu Boden gefallen, so ist seine Wirkung eine zehnmal schwächere.

Zur Desinfection von Strassen, Schiffen, Pferdeställen, Wohnungen u. s. w. genügt ein Gemisch von 1 Theil Theer und 10 oder auch 20 Theilen Wasser, dahingegen müssen zur Desinfection von Entleerungen der Cholera- oder Typhuskranken, Senkgruben und Aborten stärkere Lösungen: 1 Theil Theer auf 10 und sogar 5 Theile heissen Wassers, verwandt werden.

Fichtentheer verdient seiner Billigkeit wegen dem Birkentheer vorgezogen zu werden, aber auch aus dem Grunde, weil der Geruch des letzteren Kopfschmerzen verursacht; diese unangenehme Eigenschaft des Birkentheers ist von vielen, die damit zu arbeiten hatten, vermerkt worden.

Es war vorauszusehen, dass die Phenolhomologe, in reiner Gestalt aus Birken- oder Fichtentheer in concentrirter wässeriger Lösung (1.5 Theile auf 1000 Theile Wasser) dargestellt, weit bedeutendere antiseptische Kraft besitzen müssten, als wie der Theer an und für sich. Bei der Destillation des Theers werden diejenigen Producte, welche bis zu 250° C. abgehen, gesammelt, dann das Destillat, um die in ihm enthaltenen Phenole von den Oelen und Kohlenwasserstoffen zu befreien, mit 20 proc. Kalilauge bearbeitet. Der in der Lauge aufgelöste Theil des Destillates wird dann weiter von den oben erwähnten unlöslichen und für die Desinfection werthlosen Theerbestandtheilen mittelst eines Scheidetrichters getrennt. Dieses Gemisch von

Phenolhomologen giebt der reinen Carbolsäure an antiseptischer Kraft nichts nach, übertrifft sie wo möglich noch. Eine concentrirte wässerige Lösung erwähnter Phenole tödtet, mit Bouillonreinculturen energisch vermengt, den Kommabacillus und den Staphylococcus in 4 bis 5 Minuten, eine Mischcultur von Cholera- und Darmbacillen sowie den Typhusbacillus in 10 bis 20 Minuten. Sollte es gelingen, aus den Theerphenolen Theerlösungen nach der Art des Kreolins oder Solveols darzustellen, so hätten wir eine Reihe neuer, sicher wirkender antiseptischer Producte vor uns.

Vortragender drückte zum Schluss sein Bedauern aus, dass es in Russland an Pharmaceuten mit genügender chemischer Vorbildung mangelt und dass in Folge dessen Millionen für ausländische antiseptische Mittel verausgabt werden müssen, während das zur Desinfection vortrefflich geeignete einheimische Product, der Theer, keine Verwendung findet.

Ueber die Mikroorganismen in den Organen Choleratodter

von

L. Rekowski.

Arch. des sciences biol. I, 517. — Nach dem Referate von Dr. F. Roloff abgedruckt. Baumgarten's Jahresbericht 8, 357

Verf. hat an 14 Choleraleichen Untersuchungen über das Vorhandensein der Kommabacillen in den Organen angestellt. Möglichst bald nach dem Tode wurden die Sectionen gemacht, unter den nöthigen Cautelen Stücke der betreffenden Organe excidirt und ganz (bis zu Haselnussgrösse) in flüssige Nährmedien, Buchner's Nährflüssigkeit oder 2 proc. Peptonlösung, versenkt, mit der Galle wurden Gelatineculturen angelegt. Es fand sich, dass die Kommabacillen und mit ihnen noch andere Bacterienarten schon unmittelbar nach dem Tode in den verschiedensten Organen angetroffen werden können; besonders häufig fanden sich die ersteren in der Galle, der Leber, der Niere und im Herzen. Verf. möchte auf Grund dieser Befunde annehmen, dass manche bisher lediglich auf toxische Producte zurückgeführte Erscheinungen der Cholera, speciell des Stadium algidum und des Typhoid, auch mit der Anwesenheit der Komma- und anderer Bacterien in den verschiedenen Organen in Zusammenhang zu bringen sein dürften.

Obwohl überzeugt, dass der Koch'sche Bacillus der wahre Erreger der Cholera ist, spricht jedoch Verf., gestützt auf die Sectionsbefunde an den von ihm untersuchten Choleraleichen, die Ansicht aus, dass der normale Organismus kein günstiger Nährboden für dieses Bacterium sei, sondern dazu erst durch anderweitige Schädigungen werde. Als solche kamen in den vorliegenden Fällen namentlich schlechte Ernährung, dann Nephritis interstitialis, Dilatatio ventriculi, Cirrhosis hepatis, Gastritis glandularis, bei Frauen Abortus und Partus in Betracht.

Ueber die Nothwendigkeit einer Reform des pharmaceutischen Unterrichts

von

M. Nencki.

Вѣстникъ общественной гигіены, судебной и практической медицины (1892), Juliheft. — In deutscher Uebersetzung Pharmac. Zeitschr. f. Russland (1893), Nr. 6 bis 9.

Die langjährige Leitung eines chemischen Laboratoriums, in welchem Lernende aller möglichen Nationalitäten und verschiedener Facultäten arbeiteten, gab mir die Möglichkeit, die wissenschaftlichen Vorkenntnisse meiner Schüler, von denen die meisten schon zum Schlusse ihrer Universitätsstudien mein Laboratorium besuchten, näher kennen zu lernen. Ausserdem hatte ich häufig Gelegenheit, meinen jungen Mitarbeitern einige Rathschläge betreffs einer speciellen Richtung in ihrer weiteren Thätigkeit zu geben. Derartige Rathschläge Medicinern und Chemikern zu geben, fiel mir in den meisten Fällen nicht schwer. Einem gründlich gebildeten und gewissenhaften Arzte gelingt es recht bald, eine Anstellung als Assistent entweder in irgend einem Hospital oder bei einem älteren Collegen zu erhalten und in kurzer Zeit selbständige Praxis zu finden, besonders wenn er nicht die Absicht hat, sich irgend einer bestimmten Specialität oder wissenschaftlichen Arbeit zu widmen. Etwas schwieriger war es, den Chemikern einen guten Rath zu geben, vor allem denen, die sich speciell mit dem Studium der organischen Farbstoffe befassten, weil in den letzten 10 Jahren in der Schweiz und in Deutschland das Angebot in dieser Branche stärker ist als die Nachfrage. Uebrigens, wenn ein junger Chemiker sich nicht nur mit der organischen, sondern auch mit der anorganischen, physiologischen und landwirthschaftlichen Chemie beschäftigt hat, so glückt es auch ihm gewöhnlich, eine passende Anstellung zu finden. Am meisten Mühe machten mir die Pharmaceuten, was mich auch bewogen hat, über ihren Unterricht, den Gang ihrer Arbeiten, überhaupt über die Stellung, die der Apotheker in Bezug auf die heutigen Bestrebungen der Medicin einnimmt, nachzudenken.

Der pharmaceutische Unterricht wird in Deutschland, Russland, Oesterreich und der Schweiz zweifellos als Stiefkind betrachtet. In der Schweiz, wo das Apothekergewerbe freigegeben und in Folge dessen die Zahl der Apotheken sehr gross ist, Concurrenz der Drogisten und der Mangel an Nebeneinnahme sich fühlbar machen, ist aus der Mitte der Apotheker ein Hülferuf erschallt, welcher zur Folge hatte, dass man nun radicale Reformen vorzunehmen gedenkt, die eine bessere Ausbildung der Apotheker bezwecken, wodurch ihnen ein grösserer Wirkungskreis und bessere Einnahmen gesichert werden könnten.

Die Pharmacie ist die Schwester und Helferin der Medicin; mit den Fortschritten und Veränderungen der Medicin verändert auch sie ihre Bedeutung und Stellung

sowohl dem Arzte als auch dem Publicum gegenüber. Im Allgemeinen kann man sagen, dass der Progress in den letzten fünfzig Jahren, trotz der enormen Fortschritte der Therapie, nicht besonders günstig auf das Apothekerwesen eingewirkt hat. Zur Blüthezeit der medicinischen Diagnostik, als Lenneque in der französischen und Skoda und Oppoltzer in der Wiener Schule die negative Richtung einführten, ist das Band zwischen den Medicinern und den Pharmaceuten, zum grossen Nachtheil für die letzteren, gelockert worden. Die complicirten Magistralformeln wurden abgeschafft und die pharmakodynamische Therapeutik begnügte sich mit einigen wenigen Arzneimitteln. Neuen Aufschwung erlebte die Therapie, als Lister das antiseptische Heilverfahren einführte, worauf eine ganze Reihe verschiedener Stoffe bezüglich ihrer bacterientödtenden Eigenschaften untersucht wurden. Bald darauf ging mit der Therapie der inneren Krankheiten eine wahre Umwälzung vor sich, nämlich als die praktischen Aerzte Hiller und Zimmermann bemerkten, dass die Salicylsäure, welche schon früher von Hermann Kolbe als antiseptisches Mittel empfohlen wurde, ein ausgezeichnetes Mittel gegen Fieber und acuten Gelenkrheumatismus ist. Die vielseitige praktische Anwendung der Salicylsäure gab Veranlassung, neue, für die innere Medicin nothwendige Stoffe in dem reichen Schatze der organischen Chemie zu suchen, welche unterdessen grosse Fortschritte gemacht hatte. Der Erfolg blieb nicht aus. Antipyrin, Antifebrin, Phenacetin u. s. w. verdrängten sehr bald das bis jetzt herrschende Chinin, welches sehr stark im Preise fiel. Die heutige, besonders in Deutschland florirende Production von Arzneistoffen erinnert uns lebhaft an die analoge, wenn auch dreissig Jahre ältere Production von Farbstoffen. Nur wenige der im Pflanzenreiche vorkommenden natürlichen Farbstoffe, z. B. Indigo, ist es gelungen, auf synthetischem Wege herzustellen. Und wie gross ist jetzt die Zahl der künstlich dargestellten Farben! Wir erinnern nur an die Abkömmlinge des Triphenylmethans und an die zahlreichen Azofarbstoffe, die jetzt den Weltmarkt beherrschen. Man braucht kein grosser Prophet zu sein, um dieselbe Zukunft auch den in unseren Laboratorien gewonnenen synthetischen Arzneimitteln vorherzusagen. Ehe es gelingen wird, auch nur einige der Pflanzenalkaloide auf synthetischem Wege zu erhalten, werden wir eine Reihe von ebenso gut oder gar besser wirkenden chemischen Verbindungen besitzen, die ihr Dasein der organischen Synthese verdanken.

Inwiefern ist denn der Apotheker an der Herstellung dieser Mittel, die er dem Kranken nach Vorschrift des Arztes liefert, betheiligt?

Die wichtigsten und gebräuchlichsten Arzneimittel, wie Chloroform, Chloral, Phenol, Jodoform, Salicylsäure, Antipyrin, verschiedene Quecksilberpräparate u. s. w. werden nicht vom Apotheker angefertigt. Er verschreibt sie sich entweder direct oder durch Vermittelung eines Commissionärs aus den chemischen Fabriken, die ihm chemisch-reine oder wenigstens eine den Anforderungen der Pharmakopöe entsprechende Waare liefern. Auch die vegetabilischen Arzneimittel, wie Chinin, Morphium, Digitalin, Strychnin u. s. w. gewinnt er nicht. Er kann das alles, ebenso wie die allgemein gebräuchlichen specifischen Mittel und Tincturen, billiger und reiner aus den Fabriken erhalten. In Deutschland, wo die Mehrzahl derartiger Entdeckungen gemacht worden ist ist die Darstellung neuer Arzneimittel in den

Händen der chemischen Industrie monopolisirt, was durch das zweckmässige und vernünftig ausgearbeitete System der Schutzpatente erzielt worden ist, welche die Concurrenz von Privatpersonen und darunter natürlich auch der Apotheker, vollkommen beseitigen. Die Aufgabe eines Apothekers steht jetzt kaum höher als diejenige eines Kleinhändlers, er muss sich nur von Zeit zu Zeit überzeugen, ob die vom Grosshändler verschriebene Waare den Forderungen der Landes-Pharmakopöe entspricht. Hierfür ist natürlich kein besonders hoher Bildungsgrad erforderlich. Der einzelne Apotheker kann die neuen Arzneimittel von solcher Reinheit, und zu solchen Preisen, wie die chemischen Fabriken bei Production en gros liefern, nicht herstellen, er wird es auch in Zukunft nicht können.

In den meisten Ländern jedoch werden an einen erfahrenen Apotheker auch noch andere Anforderungen gestellt. Bis jetzt habe ich der wichtigsten Eroberung auf dem Gebiete der heutigen Medicin nicht erwähnt. Ich meine jenes bekannte Factum, dass das rechtzeitige Vorbeugen von Erkrankungen einzelner Personen und um so mehr ganzer Massen der Bevölkerung zur Zeit von Epidemien eine viel grössere Bedeutung hat, als die Behandlung der schon entwickelten Krankheit mit wenn auch gut wirkenden, erprobten Mitteln. Die heutige Hygiene im Verein mit der Bacteriologie haben uns in dieser Hinsicht vieles erklärt. Wir wissen, dass die Luft, die wir einathmen, das Wasser, der Boden, die Wäsche, die Kleidung, überhaupt alle Gegenstände des täglichen Gebrauches Infectionsträger sein können, die die Gesundheit ganzer Familien schädigen und ganze Provinzen vernichten können. Untersuchungen in dieser Richtung sowohl von Nahrungsmitteln, als auch von Gebrauchsgegenständen sind bis jetzt in den meisten Ländern nur sporadisch ausgeführt worden und wurden nur in den Fällen den Apothekern anvertraut, wenn der Verdacht aufkam, dass man es mit einer absichtlichen Falsification oder Vergiftungen zu thun habe. Die Fortschritte der Hygiene haben es in den an der Spitze der Cultur stehenden Ländern jetzt dazu gebracht, dass jeder Kreis — in der Schweiz z. B. fast jeder Canton — seinen von der Regierung bestimmten Sanitätschemiker haben muss, welcher verpflichtet ist, chemische und bacteriologische Untersuchungen auszuführen, um den schädlichen Einfluss, welchen die Luft, das Wasser, der Boden, die Nahrungsmittel und die Gegenstände des täglichen Gebrauchs haben könnten, aufzudecken. Doch hatten die Fortschritte in der Hygiene und der Bacteriologie auch das zur Folge, dass eine Reihe von neuen Untersuchungsmethoden aufgefunden wurde, zu deren Zahl mit jedem Jahre so viel hinzukommen, dass jetzt ein besonderer Specialist nothwendig geworden ist, um mit dem rasch anwachsenden Material fertig zu werden.

Fast an allen Universitäten gehört bis jetzt die Hygiene und die Bacteriologie in den Studienplan der Mediciner, während die Studenten der anderen Facultäten selten die Vorlesungen und Curse dieser Fächer besuchen. Nicht zum erstenmale sind der Medicin, die ihrer Natur nach selbst praktischen Bedürfnissen entsprungen und immer mit Fragen des Lebens und Leidens beschäftigt ist, solche Wissenszweige entsprossen, die, mit der Zeit sich zu selbständigen Disciplinen entwickelnd, nicht selten vergassen, dass sie ihre Wiege der Medicin verdanken. So z. B. die Botanik und die Chemie; denn lassen wir die Alchemie bei Seite, so erweist es sich, dass die ersten Anfänge der wissenschaftlichen Chemie in die Zeit der Iatrochemie fallen.

Uebrigens steht die Sache mit der Hygiene etwas anders; obgleich ihr zur Basis Physik und Chemie dienen, so findet sie doch ihr Material und ihre Ziele in der Medicin. Kann man aber von einem Arzte verlangen, dass er neben seinen vielseitigen Arbeiten auch noch das ausführlichere Studium der Chemie, Physik und Botanik betreibe, Fächer, die gerade, wie ich eben gesagt habe, die wissenschaftliche Basis der Hygiene und Bacteriologie sind? Während des ganzen Lehrcursus hat der Mediciner alle Hände voll zu thun. Zuerst muss er die propädeutischen Fächer — Naturwissenschaften, Anatomie und Physiologie — durchnehmen, dann folgen klinische Fächer — Pathologie, pathologische Anatomie und physiologische Chemie, ferner verschiedene medicinische Specialitäten — Ophthalmologie, Laryngologie, Psychiatrie und verschiedene praktische Curse auf dem Gebiete der medicinischen Diagnostik, so dass, wenn er auch im Laufe seiner Studienzeit die Hygiene und Bacteriologie gründlich durchnehmen sollte, er späterhin, als praktischer Arzt, doch nicht die Möglichkeit haben würde, sich mit diesen Fächern zu beschäftigen. Wir sehen, dass, während einerseits der Mediciner bis zum Ueberfluss mit Lehrfächern überbürdet ist, der Pharmaceut andererseits bei dem jetzigen Lehrprogramm, streng genommen, mit leeren Händen ausgeht. Während seiner nur zwei Jahre dauernden Studienzeit an der Universität ist er der Möglichkeit beraubt, die nothwendigen naturwissenschaftlichen Fächer, wie Chemie, Physik und Botanik, näher kennen zu lernen; unterdessen entzieht ihm aber die sich immer stärker entwickelnde chemische Grossindustrie mehr und mehr die Möglichkeit, sich mit der Bereitung pharmaceutischer Präparate zu beschäftigen. Es ist klar, dass der Apothekerstand vollständig in Verfall kommen muss, wenn ihm nicht eine radicale Hülfe erwiesen wird. Und es giebt eine vollkommen zweckentsprechende Hülfe, welche sich mit der Zeit den Weg bahnen wird.

Für die Arbeit, welche der Arzt in Folge des Ueberflusses an Material nicht bewältigen kann, ist Niemand so geeignet wie der Pharmaceut.

Wiederholt habe ich darauf hingewiesen, dass die Hygiene und die Bacteriologie sich auf die Chemie und Physik stützen. Durch Erlangung gründlicher Kenntnisse sowohl in diesen Specialitäten, wie auch in der Hygiene, physiologischer Chemie und der Chemie der Nahrungsmittel, in der chemischen Technologie und Toxikologie könnte der Pharmaceut ein ausgezeichneter Sanitätschemiker sein, das Bedürfniss aber nach solchen Chemikern wird sich mit jedem Tage immer mehr bemerkbar machen. Einestheils würde dem Arzt ein Theil seiner Ueberbürdung abgenommen, anderentheils das alte, aber gelockerte Band zwischen der Medicin und der Pharmacie zum gegenseitigen und allgemeinen Nutzen wieder gefestigt werden.

Ich werde die in den meisten Ländern vorhandenen Mängel der pharmaceutischen Bildung nicht weiter kritisiren; sie sind allgemein bekannt. Ich halte es für richtiger, einige positive Vorschläge bezüglich der Reform des Apothekerwesens, wie sie, meiner Meinung nach, am leichtesten durchgeführt werden könnte, zu machen.

Beginnen wir mit dem Schulunterricht.

Sechs Jahre in einem classischen oder noch besser in einem Realgymnasium halte ich für den Pharmaceuten hinreichend. Die nöthigen Kenntnisse in der lateinischen Sprache könnte er sich, beim Besuch des Realgymnasiums, in zwei bis drei Jahren aneignen. Mit 16 Jahren tritt er als Lehrling in eine Apotheke ein. In

zwei bis drei Jahren wird er gewiss die nöthigen technischen Kenntnisse und Manipulationen sich angeeignet haben; eigentlich wären dazu auch zwei Jahre genügend, das dritte könnte zur Ableistung der Wehrpflicht verwandt werden. Mit 19 bis 20 Jahren bezieht der Jüngling die Universität. Darüber, ob das pharmaceutische Institut eine selbständige Institution sein oder an der Universität oder irgend einer polytechnischen Schule bestehen soll, habe ich häufig mit den Lehrern der Pharmakologie gesprochen. Meistentheils kamen wir darin überein, dass das pharmaceutische Institut zur medicinischen Facultät gehören sollte. Einestheils würde dann der zukünftige Apotheker erfahren, worin er am meisten dem Arzte nützlich sein könnte, anderentheils würde auch dem zukünftigen Arzte, welcher die Absicht hat, sich in wenig cultuvirten Gegenden, in einsamen Gebirgsdörfern u. s. w. niederzulassen, die Möglichkeit geboten, sich die allernothwendigsten Kenntnisse des Apothekers anzueignen.

Der Lehrcursus der Pharmaceuten muss obligatorisch auf vier Jahre verlängert werden, von denen zwei Jahre zur Erlernung der propädeutischen, zwei andere Jahre zum Studium der pharmaceutischen und hygienischen Fächer benutzt werden. Im Laufe der ersten zwei Jahre muss der zukünftige Pharmaceut gründliche und dabei nicht nur theoretische, sondern auch praktische Kenntnisse in der Chemie, Physik, Botanik, Mineralogie und Geologie erwerben. Die Studienzeit des Pharmaceuten muss in gleicher Weise dem Besuch der Vorlesungen und den Arbeiten im Laboratorium gewidmet sein. Während des ersten Semesters müsste er wenigstens vier Stunden täglich im chemischen Laboratorium arbeiten, in dem er sich zuerst mit der qualitativen, darauf mit der quantitativen Analyse beschäftigt, um späterhin, während des zweiten Semesters, sich mit den Titrirmethoden und der quantitativen Mineralanalyse bekannt zu machen. Im Laufe dieses Semesters müsste er auch die praktischen Arbeiten in der Botanik und Mineralogie nicht vernachlässigen. Im zweiten Jahre muss vorwiegend die organische Chemie durchgenommen werden, wobei sich der Pharmaceut ebenfalls nicht weniger als vier Stunden täglich praktisch beschäftigen muss. Neben der chemischen Technologie müsste er im Laufe dieses Jahres auch den praktischen Cursus der Physik besuchen, um unter der Leitung und Führung des Lehrers den Gebrauch der Apparate, die er in Zukunft wird benutzen müssen, wie z. B. die Wage, das Mikroskop, den Spectralapparat, die polarimetrischen und elektrischen Apparate, in der Praxis kennen zu lernen. Nach zwei Jahren hält der Student das erste pharmaceutische propädeutische Examen in den bekannten Fächern, um dann zu den speciellen Fächern überzugehen: zur Pharmacie, Pharmakognosie, Waarenkunde, physiologischen Chemie und Chemie der Nahrungsmittel, Toxikologie, gerichtlichen Medicin, Receptur, Hygiene und Bacteriologie. Auch hier müssen, ausser den theoretischen Vorlesungen, für jedes einzelne Fach obligatorische praktische Curse eingeführt werden. Bei richtiger Vertheilung der Arbeitsstunden wird die von mir bezeichnete Zeitdauer nicht zu kurz sein. Nach Absolvirung des vierjährigen Cursus kann der Candidat zum Schluss- oder Staatsexamen vorgelassen werden. Mehr als zwei Examen im Laufe des vierjährigen Cursus zu halten, ist, meiner Ansicht nach, nutzlos. Je mehr Examina, desto weniger Wissenschaft; ausserdem muss auch den Lernenden selbst eine gewisse Wahlfreiheit bezüglich der Reihenfolge im Hören der theoretischen Vorlesungen und im Besuchen der praktischen Curse überlassen werden.

Die Mehrzahl der Vorlesungen können die Pharmaceuten natürlich mit den Medicinern zusammen hören. Nur muss die Stundenzahl, die für die praktischen Arbeiten in verschiedenen Zweigen der Chemie bestimmt ist, für den zukünftigen Pharmaceuten zwei- bis dreimal grösser sein als diejenige, die bis jetzt an den meisten Universitäten diesem Zwecke zugetheilt wird. Auch müssten praktische Curse in der Hygiene und Bacteriologie obligatorisch sein. Der zukünftige Pharmaceut oder richtiger Sanitätschemiker, welcher in seinem weiteren Leben ein Laboratorium zur Verfügung haben wird, könnte schon kraft der Thatsache, dass ihm die Bedürfnisse des praktischen Arztes bekannt sind, dem letzteren in rein chemischen und chemisch-bacteriologischen Fragen nützlich sein. Die Bereitung der sterilisirten Nährmedien, die chemische Untersuchung des Harns, des Blutes, des Darminhalts, des Sputums wird schon jetzt in der Schweiz von den Cantonschemikern, die meistentheils aus der Mitte der Pharmaceuten gewählt werden, für die praktischen Aerzte ausgeführt. Auch bei gerichtlich-chemischen und hygienischen Expertisen werden derartig vorbereitete Chemiker dem Staate viel grössere Dienste erweisen, als es bis jetzt der Fall gewesen. Schon zu Beginn meines Staatsdienstes in Russland habe ich die Bedeutung des Mangels an Sanitätschemikern in grossen und in Gouvernementsstädten erkannt, und zwar im vorigen Jahr bei Gelegenheit des von der St. Petersburger Stadtverwaltung in Libau angekauften Mehls. Wenn es bei derartigen Einkäufen angenommen wäre — was zu verlangen eigentlich auch nothwendig gewesen — dass der Verkäufer eine quantitative Analyse der einzelnen Mehlsorten, ausgeführt vom verantwortlichen Chemiker der Stadt Libau, dem Käufer vorstellen muss, so würde eine Ausgabe von 50 bis 100 Rbl. den ganzen Verlust, die Unmasse von nutzlosen Expertisen und den ganzen in dieser Angelegenheit entstandenen Wirrwarr verhütet haben. Auch beim Ausbrechen von epidemischen Krankheiten von Menschen und Hausthieren könnte man mit Hülfe von gründlich gebildeten Pharmaceuten durch rasche Diagnose und zweckmässige sanitärpolizeiliche Maassnahmen viel wirksamer dem Umsichgreifen der Krankheit entgegensteuern, als es jetzt geschieht.

Mehrmals wurde vorgeschlagen, dass wenigstens ein Theil der Pharmaceuten ihre Bildung in dem von mir bezeichneten Sinne erhalten, für die übrigen aber das bis jetzt existirende Programm verbleiben sollte. Ich halte das für nicht zweckentsprechend. Halbe Maassnahmen können nur muthmaasslichen Nutzen bringen. Einen analogen Fall haben wir unlängst mit den Chirurgen 1. und 2. Classe gehabt. Alle sind sehr bald zu der Ueberzeugung gekommen, dass eine derartige Einrichtung das Ziel nicht erreicht. Gerade in Russland, wo die chemische Grossindustrie sich noch in der Wiege befindet, eröffnet sich für chemisch gründlich gebildete Pharmaceuten ein weites Feld der Thätigkeit — als Fabrikant, Drogist, Techniker, Weinbauer u. s. w. Hoffen wir, dass die von uns vorgeschlagene Reform einst dahin führen wird, dass die in Folge von Monopolschutz durch Patente theuren Arzneimittel nicht nur den Reichen, sondern auch den weniger bemittelten Leuten zugänglich werden. Auf diese Weise und im Verein mit rationellen hygienischen Institutionen könnte die Fürsorge betreffs der Gesundheit des ganzen Volkes auf die gewünschte Höhe gebracht werden.

1893

Die Synthese der aromatischen Oxyketone

von

M. Nencki.

Vortrag in der chemischen Versammlung in Petersburg am 11. Februar. Журналъ Физико-химическаго Общества **25**, 110. — Aus dem Russischen übersetzt.

Es sind mehr als 10 Jahre verflossen, seitdem ich in Gemeinschaft mit meinen Mitarbeitern die ersten Oxyketone [1]) durch Erwärmen von Phenolen mit Säuren in Gegenwart von Chlorzink erhalten habe. Seit jener Zeit habe ich dieser interessanten Classe von chemischen Körpern stets meine Aufmerksamkeit gewidmet und meine Untersuchung fortgesetzt, soweit es meine Zeit erlaubte.

Schon ganz im Beginne unserer Untersuchungen konnten wir constatiren, dass bei Weitem nicht alle Phenole sich beim Erwärmen mit Säuren zu Oxyketonen condensiren. Ich begann nach einem condensirenden Mittel, das sich in diesem Falle als brauchbar erweisen könnte, zu suchen und fand es in dem Phosphoroxychlorid [2]). Die Ergebnisse, zu denen mich die Untersuchung dieser Reactionen führte, waren folgende: Säuren und Phenole bilden beim Erwärmen mit Chlorverbindungen von Zink, Zinn, Aluminium oder mit concentrirter Schwefelsäure Ketone; der Säurerest ersetzt in diesen Fällen ein Wasserstoffatom im Benzolkerne; das Phosphoroxychlorid bildet bei der Reaction ätherartige Verbindungen. In dieser Weise wurde von uns eine Reihe von Estern erhalten, welche mit Hülfe der früheren Methoden nicht dargestellt werden konnten.

Von diesen Säurephenylestern haben die salicylsäurehaltigen, die sogenannten „Salole", in der Medicin eine weit verbreitete Anwendung gefunden. Was die Oxyketone anbetrifft, so hat Dr. Bonn gefunden, dass diejenigen von ihnen, in deren

[1]) Journ. f. prakt. Chemie **23**, 147 (1881). — Nencki's Opera omnia **1**, 571.
[2]) Ebenda **25**, 282. — Nencki's Opera omnia **1**, 630.

Kern, ausser der chromophoren Gruppe, sich zwei Hydroxyle in Orthostellung befinden, beizenziehende Farbstoffe darstellen, wie das nach der Theorie von Prof. Kostanecki zu erwarten war. Seit jener Zeit haben auch diese Stoffe ihre praktische Verwendung gefunden und sind von der Badischen Anilin- und Sodafabrik patentirt worden [1]. Die Fabrik hat sie als gelbe Farbstoffe für Thonerdebeize in den Handel gebracht. Was das Gallacetophenon anbetrifft, so haben Versuche von Dr. Rekowski [2]) ergeben, dass es bei Weitem nicht so giftig ist wie das Pyrogallol; der Thierkörper scheidet dasselbe in unveränderter Form, als Aetherschwefelsäure oder in Verbindung mit der Glycuronsäure aus. Auf Grund der von Dr. Rekowski angestellten Untersuchungen wird das Gallacetophenon mit gutem Erfolge bei der Behandlung einiger Krankheiten, wie z. B. des Psoriasis, verwandt.

Nach Beobachtungen von W. H. Perkin können Oxyketone schon beim Erwärmen der Säurechloranhydride mit Phenolen entstehen. So erhielt er z. B. bei der Destillation von Phenol mit Propionyl- resp. Butyrylchlorid neben dem Propion- sowie Buttersäurephenylester auch Propionyl- und Butyrylphenole. Andererseits kann man, wenn man aromatische Oxyketone durch Erwärmen mit Phenolen in Gegenwart von Chlorzink condensirt, Xanthone erhalten, welche unter Ausscheidung von zwei Wassermolekülen entstehen; in der That hat A. Michael [3]) schon im Jahre 1883 das Oxyxanthon, $C_6H_4{<}{}^{O}_{CO}{>}C_6H_3OH$, dargestellt, indem er Resorcin und Salicylsäure zusammenschmolz.

Ich beabsichtige nicht, die Thatsachen, deren Studium in das Bereich meines Freundes, Prof. Kostanecki in Bern, hineingehört, näher zu erörtern; ich wollte nur die nahe Verwandtschaft der aromatischen Oxyketone mit den Xanthonen hervorheben.

Um das Verständniss der Thatsachen, über die ich weiter unten zu berichten haben werde, zu erleichtern, habe ich eine Tabelle der Oxyketone, die bis jetzt aus einwerthigen Fettsäuren erhalten worden sind, zusammengestellt.

Keton und relative Stellung der Seitenketten	Schmelzpunkt Grad	Literatur
Oxyphenylmethylketon oder Acetylphenol $C_6H_4(OH)-CO.CH_3$ (1, 4)	108	A. Michael u. G. M. Palmer, Amer. chem. Journ. **7**, 275 und Ber. **19**, 62. Ref.
Propionylphenol $C_6H_4(OH)-CO.C_2H_5$ (1, 4)	148	W. H. Perkin, Journ. of chem. society **55**, 547. — A. Goldzweig u. A. Kaiser, Journ. f. prakt. Chem. **43**, 86. — Dieser Band S. 236.
Acetylresorcin oder Resacetophenon $C_6H_3(OH)(OH)-CO.CH_3$ (1, 3, 4)	142	M. Nencki u. N. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. **23**, 147. — Nencki's Opera omnia **1**, 571. — H. Pechmann u. C. Duisberg, Ber. **16**, 2123.

[1]) Ber. **23**, 43 und 188. Ref.

[2]) Therap. Monatsh. 1891, Sept. — Dieser Band S. 226.

[3]) Amer. chem. Journ. **5**, 91 und Ber. **16**, 2298.

Keton und relative Stellung der Seitenketten	Schmelzpunkt Grad	Literatur
Propionylresorcin $C_6H_3(OH)(OH)—CO.C_2H_5$ 1 3 4	95	Goldzweig u. Kaiser l. c.
.cetylhydrochinon oder Chinacetophenon $C_6H_3(OH)(OH)—CO.CH_3$ 1 4 5	202	M. Nencki u. W. Schmid, Journ. f. prakt. Chem. **24**, 546. — Nencki's Opera omnia **1**, 593.
Propionylhydrochinon $C_6H_3(OH)(OH)—CO.C_2H_5$ 1 4 5	92	Goldzweig u. Kaiser l. c.
Acetobrenzcatechin $C_6H_3(OH)(OH)—CO.CH_3$ 1 2 4	116	S. Dzierzgowski, Журналъ физ. хим. Общества **25**, 157. — Siehe folgenden Artikel.
Orcacetophenon oder Acetylorcin $C_6H_2(CH_3)(OH)(OH)—CO.CH_3$	146	F. Rasiński, Journ. prakt. Chem. **26**, 59. — Nencki's Opera omnia **1**, 678.
Acetopyrogallol oder Gallacetophenon $C_6H_2(OH)(OH)(OH)—CO.CH_3$ 1 2 3 4	168	M. Nencki u. N. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. **23**, 147 u. 538. — Nencki's Opera omnia **1**, 574 u. 588.
Propionylpyrogallol $C_6H_2(OH)_3—CO.C_2H_5$	127	Patentschrift der Badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen a. Rh. D. R.-P. 49149. Ber. **23**, 43 u. 188. Ref.
utyrylpyrogallol aus Pyrogallol und normale Buttersäure $C_6H_2(OH)_3—CO.C_3H_7$	100	
ioxybutylphenylketon aus Pyrogallol und Isovaleriansäure $C_6H_2(OH)_3—CO.C_4H_9$	108	
Oxynaphtylmethylketon oder Acetylnaphtol $C_{10}H_6(OH)—CO.CH_3$	103	O. N. Witt, Ber. **21**, 321.
α-Propionylnaphtol $C_{10}H_6(OH)—CO.C_2H_5$	81	Goldzweig u. Kaiser l. c.
α-Butyrylnaphtol $C_{10}H_6(OH)—CO.C_3H_7$	78	
α-Isobutyrylnaphtol $C_{10}H_6(OH)—CO.CH(CH_3)_2$	79	

Zu dieser Tabelle gehören noch folgende Aufklärungen:

Ketone, welche aus aromatischen Säuren und Phenolen zu erhalten sind, sind nicht berücksichtigt worden. Aus der Ameisensäure und Phenolen können mylketone, d. h. Oxyaldehyde, nicht erhalten werden: die Condensation schreitet ter fort, aus einem Molekül Ameisensäure und drei Molekülen Phenol werden drei lekūle Wasser nach der Gleichung: $HCOOH + (C_6H_5OH)_3 = CH(C_6H_4OH)_3$ 3 H_2O, wobei Leukoaurine entstehen, ausgeschieden. Seiner Zeit haben wir nach

dieser Methode eine ganze Reihe von Aurinen dargestellt und auf diese Weise die Bildung von Rosolsäure aus Oxalsäure aufgeklärt [1]).

Von den zwei Carbonsäuren des Pyrogallols, deren Existenz theoretisch möglich ist, nimmt in der Gallussäure die Carboxylgruppe zu den drei benachbarten Hydroxylgruppen folgende Stellung ein: $CO_2H:OH:OH:OH = 1:3:4:5$. Die der Gallussäure isomere Pyrogallocarbonsäure, deren Seitenketten folgende Stellung einnehmen: $CO_2H:OH:OH:OH = 1:2:3:4$, wurde zuerst von den Herren Senhofer und Brunner [2]) dargestellt, später aber auch von Herrn Kostanecki [3]) untersucht. Ich habe versucht, das Gallacetophenon in eine der beiden Carbonsäuren überzuführen, indem ich alkalische oder saure Lösungen desselben mit Kaliumhypermanganat oxydirte oder auf das in Essigsäureanhydrid aufgelöste Keton mit Chromsäure einwirkte. Auf diese Weise wollte ich die Lage der Acetylgruppe in dem Kern des Gallacetophenons bestimmen. Das Ergebniss dieser Versuche war jedoch stets ein negatives. Zuweilen erhielt ich wiederum das Gallacetophenon, manchmal aber ging die Oxydation zu weit [4]). Aehnlich der Pyrogallocarbonsäure giebt das Gallacetophenon mit Eisenchlorid eine grünbraune Färbung. Sehr verdünnte wässerige Lösungen des Gallacetophenons geben mit Kalkwasser blaue, mit Barytwasser aber grüne Färbung. In beiden Fällen bilden sich beim Stehen blaue Niederschläge. Auch unter Einwirkung von Spuren von Salpetersäure zeigen Gallacetophenonlösungen in concentrirter Schwefelsäure die für die Pyrogallocarbonsäure charakteristische violette Färbung. Diese Farbenreaction fällt am leichtesten in sehr verdünnten Lösungen des Gallacetophenons, so z. B. bei einem Gehalt von 0.01 g der Substanz in 100 g concentrirter Schwefelsäure, aus. Ein Tropfen der 1 : 10000 Kaliumnitrat enthaltenden Flüssigkeit giebt an der Berührungsstelle mit dem Reactiv noch eine deutliche violette Färbung. Lösungen von Kaliumnitrit zeigen die Reaction in bedeutend schwächerem Maasse, wahrscheinlich deshalb, weil das Acetyl des Gallacetophenons, gleich wie das Carboxyl der Pyrogallocarbonsäure, dem Hydroxyl sehr nahe steht.

Es interessirte mich festzustellen, ob man nicht etwa in dem Benzolkern die Wasserstoffatome durch ein oder mehrere Säureradicale ersetzen könnte, indem man mit entsprechenden condensirenden Mitteln entweder direct auf die Phenole oder aber auf die Oxyketone einwirkt. Es lag der Gedanke nahe, dass ein solches Mittel in dem zu gleicher Zeit wirkenden Phosphoroxychlorid und Chlorzink zu suchen ist. Der Versuch ergab in der That, dass man, indem man in dieser Weise auf Fettsäuren und Oxyketone einwirkt, gut krystallisirende und constante Verbindungen erhält. Die Untersuchung, welche von meinen früheren Assistenten Dr. Crépieux und Herrn Vogelsanger ausgeführt wurde, wies nach, dass dieses die gewünschten Diketone waren. Es wurden 20 g Chlorzink in 50 g Eisessig gelöst und der Lösung 10 g Resacetophenon hinzugefügt. Sobald sich das Keton vollständig aufgelöst

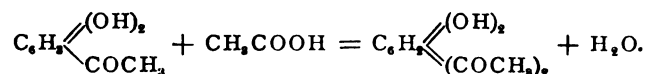
[1]) Journ. f. prakt. Chem. **25**, 273. — Nencki's Opera omnia **1**, 624.

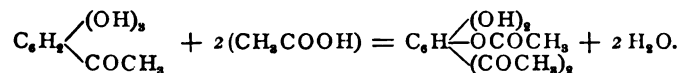
[2]) Monatsh. f. Chem. **1**, 468.

[3]) Ber. **18**, 3205.

[4]) Beim Schmelzen von Gallacetophenon mit Aetzkali konnte ich ebensowenig das Acetyl zu Carboxyl oxydiren.

hatte, wurden der Lösung 10 g Phosphoroxychlorid hinzugesetzt, jedoch nicht auf einmal, sondern in kleinen Portionen. Es fand sofort eine energische Salzsäureentwickelung statt und nach halbstündigem Erwärmen auf 140 bis 150° nahm die Reaction ihr Ende. Die erhaltene Schmelze wurde dann in eine grosse Menge Wasser gegossen, der Niederschlag mit Wasser ausgewaschen und das erhaltene Product aus 50 Proc. Alkohol umkrystallisirt. Ist das erhaltene Diketon rein, so löst es sich in Alkalien auf, ohne sie zu färben, und nach Einwirkung von Säuren auf die alkalische Lösung fällt es unverändert aus. Sein Schmelzpunkt liegt bei 180°. Die Reaction verläuft hier ganz entsprechend folgender Gleichung:

$$C_6H_3\left\langle\begin{matrix}(OH)_2\\COCH_3\end{matrix}\right. + CH_3COOH = C_6H_2\left\langle\begin{matrix}(OH)_2\\(COCH_3)_2\end{matrix}\right. + H_2O.$$

In gleicher Weise hat Herr Crépieux auch das Diketon des Pyrogallols erhalten, jedoch ist hier das erste Reactionsproduct der Essigester, welcher nach folgender Gleichung entsteht:

$$C_6H_2\left\langle\begin{matrix}(OH)_3\\COCH_3\end{matrix}\right. + 2(CH_3COOH) = C_6H\left\langle\begin{matrix}(OH)_2\\OCOCH_3\\(COCH_3)_2\end{matrix}\right. + 2H_2O.$$

Beim Verseifen dieser Verbindung mit 70 Proc. Schwefelsäure erhielt Herr Crépieux das Gallodiacetophenon $CH_3—CO—C_6H(OH)_3—CO—CH_3$ in Form eines farblosen krystallinischen Körpers, welcher bei 188° schmilzt [1]).

In ganz ähnlicher Weise erhielten wir aus dem Gallobenzophenon: $C_6H_2(OH)_3—CO—C_6H_5$ das Gallacetobenzophenon: $CH_3—CO—C_6H(OH)_3—CO—C_6H_5$. Diesen Körper hat Herr Vogelsanger untersucht. Ich erlaube mir, hier das Allerwichtigste aus seinen noch nicht veröffentlichten Untersuchungen mitzutheilen.

15 g Chlorzink wurden in 40 g Eisessig gelöst; zu der Lösung setzt man 10 g trockenes Gallobenzophenon hinzu und erwärmt dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade mit Rückflusskühler fast bis zur vollkommenen Auflösung des Ketons. Sodann werden vorsichtig und allmählich 10 g Phosphoroxychlorid hinzugefügt. Die Reaction und Entwickelung von Salzsäure geht sehr energisch von statten, und bei allzu raschem Zusetzen des Phosphoroxychlorids kann das Product leicht verharzen. Um dieses zu vermeiden, ist es zweckmässig, den Kolben öfters zu schütteln. Etwa nach Ablauf von 10 Minuten hört man mit dem Erwärmen auf und wird die Schmelze in kaltes Wasser ausgegossen, wobei das Reactionsproduct als rothgefärbtes Harz abgeschieden wird. Die Substanz wird weiter sorgfältig mit Wasser gewaschen und mehrmals aus heissem Alkohol umkrystallisirt; in diesem Falle erhält man sie als fast farblose rhombische Nadeln, welche stets bei 165° schmelzen. Die Elementaranalyse der vom Chlor und Phosphor befreiten Substanz und die Bestimmung ihres Molekulargewichtes nach der Methode Raoult (als Lösungsmittel diente Phenol) ergab, dass sie der empirischen Formel $C_{17}H_{14}O_6$ entspricht. Hier, wie auch beim Gallacetophenon, ging die Reaction im Sinne folgender Gleichung von statten:

---

[1]) Weitere Details sind in der Originalarbeit von Dr. Crépieux im Bullet. de la soc. chim. de Paris 1891, p. 151, nachzulesen. — Dieser Band S. 253.

$$C_6H_2(OH)_3COC_6H_5 + (CH_3CO_2H)_2 = C_6H\begin{cases}(OH)_2\\ OCOCH_3\\ COC_6H_5\\ COCH_3\end{cases} + 2\,H_2O.$$

0.235 g der über Schwefelsäure getrockneten Substanz gaben 0.5587 g CO_2 und 0.097 g H_2O = 64.84 Proc. C und 4.58 Proc. H. 0.2705 g gaben 0.6477 g CO_2 und 0.1211 g H_2O = 65.21 Proc. C und 4.62 Proc. H. Die Formel $C_{17}H_{14}O_6$ verlangt: 64.94 Proc. C und 4.45 Proc. H.

Die Bestimmung des Molekulargewichts nach Raoult wurde in dem von Dr. John Abel[1]) beschriebenen Apparate, den ich in meinem Laboratorium gebrauche, ausgeführt. Zwei Bestimmungen ergaben folgende Zahlen:

1. Gewicht der Substanz . . . . 0.3695 g
   Gewicht des Phenols . . . . 18.88 g
   Depression = 0.47°. M = 316.
2. Gewicht der Substanz . . . . 0.3104 g
   Gewicht des Phenols . . . . 19.19 g
   Depression = 0.38°. M = 323.

Nach der Formel $C_{17}H_{14}O_6$ beträgt das Molekulargewicht 314.

Zur Darstellung des Phenylhydrazons dieses Ketons löst man 1 ccm der Substanz und 3 ccm Phenylhydrazin in Alkohol und kocht in einem Apparat mit Rückflusskühler, wobei das Hydrazon in Form von gelben Nadeln ausgeschieden wird. Dieser Körper ist sowohl in kaltem, als auch in kochendem Alkohol fast unlöslich. Deshalb kann man ihn leicht als Reinproduct erhalten, indem man die Krystalle auf dem Filter mit heissem Alkohol auswäscht. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure schmilzt die Substanz im Capillarrohre bei 248 bis 249°. Die Stickstoffbestimmung hat unerwarteter Weise ergeben, dass das Phenylhydrazin bloss ein Sauerstoffatom des Ketons ersetzt hat.

0.1825 g der Substanz gaben 13.0 ccm Gas bei 20° und 710 mm Bst., was 7.5 Proc. N entspricht.

Das Phenylhydrazon von dem Bestande:

$$CH_3-CO-C_6H(OH)_2(O.CO.CH_3)-\underset{\underset{C_6H_5HN-N}{\|}}{C}-CH_3$$

verlangt 7.1 Proc. N.

Ueber die chemische Natur dieses Körpers fanden wir Aufschluss, indem wir ihn mit 70 Proc. Schwefelsäure zersetzten oder aber mit Aetzkali verseiften. In beiden Fällen fand eine Abspaltung eines Moleküls Essigsäure statt, wobei ein und dieselbe Substanz, nämlich Gallacetobenzophenon, entstand.

3 g der Verbindung $C_{17}H_{14}O_6$ werden mit 2 g einer alkoholischen Aetzkalilösung im Wasserbade am Rückflusskühler ziemlich lange gekocht, wobei die Flüssigkeit in Folge Sauerstoffabsorption eine dunkelblaue Färbung annimmt. Nach Zusatz von Salzsäure fällt das verseifte Product in Krystallform, jedoch in Verbindung mit einer gelbgefärbten Substanz zu Boden; letztere Substanz wird augenscheinlich in Folge Oxydation der alkalischen Lösung während des Kochens bei Luftzutritt

[1]) Wiener Monatsh. f. Chem. **11**, 61. — Dieser Band S. 145.

gebildet. Die Verseifung in saurer Lösung hat sich als viel zweckmässiger erwiesen: 1 Theil der Substanz und 20 Theile 70proc. Schwefelsäure werden im Wasserbade bis zu vollständigem Auflösen erhitzt, dann diesem Gemisch die achtfache Menge Wasser hinzugesetzt, die Lösung im Wasserbade noch während zwei bis drei Stunden erhitzt und schliesslich wird das Gemisch im Laufe von 24 Stunden im Kolben sich selbst überlassen. Das entstandene Product fällt in Form einer zähen, klebrigen Masse zu Boden; sie wird sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und aus Alkohol mehrmals umkrystallisirt. Die Elementaranalyse ergab Zahlen, welche sich mit der Formel $C_{15}H_{12}O_5$ decken.

0.3290 g der Substanz gaben 0.796 g CO_2 und 0.1380 g H_2O = 66.05 Proc. C und 4.6 Proc. H.

0.2190 g gaben 0.5115 g CO_2 und 0.1035 g H_2O = 66.14 Proc. C und 4.8 Proc. H.

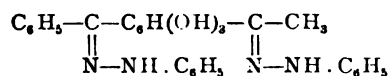
Die Formel $C_{15}H_{12}O_5$ verlangt 66.18 Proc. C und 4.41 Proc. H.

In dieser Verbindung $C_6H_5—CO—C_6H(OH)_3—CO—CH_3$ ersetzt die Acetylgruppe ein Wasserstoffatom des Benzolkerns, was durch die chemische Structur des Phenylhydrazons, welches von Herrn Vogelsanger erhalten worden ist, bestätigt wird.

Ein Theil der Substanz und genau zwei Theile Phenylhydrazin werden in einer geringen Menge Alkohol gelöst und im Laufe einer Stunde im Wasserbade am Rückflusskühler gekocht. Erfolgt nach Abkühlen der Lösung keine Ausscheidung von Krystallen, so wird ein Theil des Alkohols verdunstet; nach Erkalten der Lösung fällt jetzt das Phenylhydrazon in Form von gelben, bei 233 bis 234° schmelzenden Nadeln zu Boden. An der Luft ist die Substanz veränderlich: die gelben Nadeln röthen sich bald, nach mehreren Tagen aber nehmen sie eine schwarzbraune Färbung an. Die Stickstoffbestimmung der im Vacuum getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.1743 g gaben bei Anwendung von 20 Proc. Aetzkali im Apparate von Zulkowski 20.0 ccm N-Gas bei 28° C. und 712 mm Bst. = 11.92 Proc. N.

Die Formel:

$$\begin{array}{l} C_6H_5—\underset{\displaystyle \| \atop N—NH\,.\,C_6H_5}{C}—C_6H(OH)_3—\underset{\displaystyle \| \atop N—NH\,.\,C_6H_5}{C}—CH_3 \end{array}$$

verlangt 12.38 Proc. N.

Unter Einwirkung schwacher Salpetersäure (spec. Gew. 1.12) oxydirt sich das Gallacetobenzophenon leicht, das einzige fassbare Oxydationsproduct war jedoch die Benzoësäure.

Sowohl das Gallodiacetophenon als auch das Gallacetobenzophenon sind Farbstoffe, welche mit Thonerdebeize durchtränkte Stoffe schön gelb färben, jedoch ist die Intensität ihrer Färbekraft eine viel geringere, als wie diejenige des Ausgangskörpers, aus welchem beide Substanzen gebildet werden.

Schon ganz im Anfang unserer Untersuchungen fiel es uns auf, dass Sä radicale[1]) nicht immer im Stande sind, alle Hydroxylwasserstoffatome der aromatis

[1]) Vergl. Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. **23**, 147. — Nencki's On omnia **1**, 571.

Oxyketone zu ersetzen. So erhitzten wir z. B. das Resacetophenon sowohl mit Essigsäureanhydrid als auch mit Chloracetyl, konnten jedoch in beiden Fällen nur ein Monoacetylderivat erhalten. Auf meinen Vorschlag hat Herr Dr. Crépieux[1]) versucht, das Gallacetophenon und das Resacetophenon vollständig zu acetyliren, indem er sie mit Essigsäureanhydrid erhitzte. Auf diese Weise erhielt er aus dem Gallacetophenon einen Diacetyläther $C_6H_2(OH)(O.CO.CH_3)_2—CO.CH_3$, aus dem Resacetophenon aber den von uns schon früher dargestellten Monoacetyläther $C_6H_3(OH)(O.CO.CH_3)—CO.CH_3$ [2]). In beiden Fällen blieb ein Hydroxylwasserstoffatom unersetzt. Herr Vogelsanger erhitzte das Acetylgallacetobenzophenon $C_6H_5—CO—C_6H(OH)_2(O.CO.CH_3)—CO—CH_3$ mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat, aber auch ihm ist es nicht gelungen, in dieser Weise beide Hydroxylwasserstoffatome zu ersetzen. Das durch Wasserzusatz ausgeschiedene und mehrere Male aus Alkohol umkrystallisirte Product zeigte den Schmelzpunkt und den Procentgehalt des unveränderten Acetylgallacetobenzophenons. Dahingegen konnte aus dem Gallobenzophenon $C_6H_2(OH)_3—CO—C_6H_5$ durch Erhitzen bis zum Sieden im Laufe von 15 Minuten mit Essigsäureanhydrid und geschmolzenem Natriumacetat der erwartete Triacetyläther dargestellt werden. Um das überschüssige Anhydrid zu zersetzen, wurde die Flüssigkeit nach dem Erkalten mit dem doppelten Volumen Wasser zersetzt und im Laufe von 24 Stunden an einem kalten Orte stehen gelassen. Das acetylirte Product bildete hierbei einen krystallinischen Niederschlag, welcher abgepresst und aus concentrirter Essigsäure umkrystallisirt wurde. Wir erhielten auf diese Weise schön ausgebildete Prismen, welche allem Anscheine nach dem rhombischen Systeme angehörten; ihr Schmelzpunkt war 111° C. Die Elementaranalyse der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.3279 g gaben 0.7766 g CO_2 und 0.1309 g H_2O, was 63.71 Proc. C und 4.43 Proc. H ausmacht.

Die Formel $C_6H_2(O.CO.CH_3)_3—CO—C_6H_5$ verlangt 64.05 Proc. C und 4.11 Proc. H.

Unsere Versuche haben also nachgewiesen, dass die Zahl der Hydroxylgruppen in denjenigen Oxyketonen, in deren Benzolkern Acetyl vorhanden ist, nicht durch das Erhitzen mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat bestimmt werden kann, weil in diesen Fällen das Acetyl nicht alle Hydroxylwasserstoffe ersetzt.

Sobald wir gefunden hatten, dass bei gleichzeitiger Einwirkung von Phosphoroxychlorid und Chlorzink auf Oxyketone dieselben in Diketone umgewandelt werden können, beschlossen wir denselben Modus procedendi auch an Gemischen von Fettsäuren und aromatischen Kohlenwasserstoffen anzuwenden. Mit den ersten Versuchen bezweckten wir, uns in dem neuen Verfahren zu orientiren; wir benutzten zu diesem Zwecke das Toluol; die Ergebnisse dieser Versuche täuschten unsere Erwartungen nicht. Nach Erhitzen von Toluol mit Eisessig, Chlorzink und Phosphoroxychlorid erhielten wir nicht nur das erwartete Tolylmethylketon, sondern die Reaction ging noch weiter: das Chlormethyl wird abgespalten und das in der

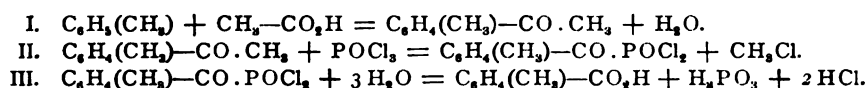
---

[1]) Bullet. de la Soc. chim. de Paris, l. c. S. 160. — Dieser Band S. 254.

[2]) Siehe Nencki's Opera omnia 1, 574.

ersten Reactionsphase gebildete Keton geht in Paratoluylsäure über. Die Herren Frey und Horowitz haben in meinem Laboratorium eine genaue Untersuchung dieser Reaction unternommen und sie im Journal für praktische Chemie **43**, 113 beschrieben (siehe diesen Band S. 245).

Die Reaction besteht aus drei nach einander folgenden Phasen. Unter Einwirkung von Chlorzink und Phosphoroxychlorid entsteht aus der Essigsäure und dem Toluol in erster Linie das Tolylmethylketon; bei weiterer Einwirkung von Phosphoroxychlorid wird das Chlormethyl abgespalten und es entsteht eine Verbindung des Ketons mit dem Phosphoroxychlorid; in Wasser gegossen zerfällt diese Verbindung sofort in Toluyl-, phosphorige und Salzsäure. Folgende drei Gleichungen verdeutlichen die einzelnen Phasen dieser Reaction:

I. $C_6H_5(CH_3) + CH_3{-}CO_2H = C_6H_4(CH_3){-}CO.CH_3 + H_2O.$
II. $C_6H_4(CH_3){-}CO.CH_3 + POCl_3 = C_6H_4(CH_3){-}CO.POCl_2 + CH_3Cl.$
III. $C_6H_4(CH_3){-}CO.POCl_2 + 3\,H_2O = C_6H_4(CH_3){-}CO_2H + H_3PO_3 + 2\,HCl.$

Die erwähnten Herren haben entsprechende Ketone und Säuren nicht nur aus Toluol, sondern auch aus Essigsäure und den drei isomeren Xylolen dargestellt. Aus Benzol konnte keine Benzoësäure erhalten werden. Aus Cymol und Essigsäure entstand in geringer Quantität Cymolcarbonsäure, welche schon früher von E. Paternò und P. Spica[1]) erhalten worden war. Wir haben vielmals getrachtet, die Versuchsbedingungen zu variiren, trotzdem aber konnten wir nie eine bedeutendere Menge Keton resp. Carbonsäure erhalten. Im günstigsten Falle betrug die Ausbeute aus Xylol und Toluol 25 Proc. der theoretischen Quantität. Bei stürmischem Verlauf der Reaction verharzte stets ein Theil des Kohlenwasserstoffes, resp. des aus ihm entstandenen Ketons, was freilich die Menge des gebildeten Productes verminderte. Diketone wurden von uns hierbei nicht erhalten.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Beziehung von Interesse, als wir dank ihnen nicht nur Ketone erhielten, sondern auch eine neue Methode der Synthese aromatischer Carbonsäuren fanden.

Unsere Untersuchungen waren jedoch mit diesen Synthesen nicht abgeschlossen. Die grosse Bedeutung der Oxyketone in theoretischer sowie in medicinischer Beziehung bewog uns zu versuchen, ob es nicht möglich wäre, Oxyketone aus Phenolen und halogensubstituirten Fettsäuren zu erhalten. Die Chloressigsäure ist der billigste und in Folge dessen auch zugänglichste Repräsentant dieser Classe von Körpern; mit ihr angestellte Versuche überzeugten uns, wie verschieden die Reaction, je nach der Natur des angewandten Phenols, verlaufen kann.

Schon der erste Versuch mit dem Phenol par excellence und dem Chlorzink führte zu einem Ergebniss, welches auf Grund der früheren Methoden ganz und gar nicht zu erkennen war. Vorversuche hatten mich überzeugt, dass allzu langes Erwärmen oder allzu hohe Temperatur die Verharzung des Productes bedingen. Die Methode, welche mir ein schön krystallisirendes Product ergab, war folgende:

Ich nahm gleiche Gewichtstheile (20 bis 50 g) Chloressigsäure, Phenol und Chlorzink und erhitzte das Gemisch unter fortwährendem Umrühren in einem offenen

[1]) Ber. **12**, 2366.

Kolben mit in der Schmelze steckendem Thermometer auf 140° C. Diese Temperatur wurde im Laufe von 10 Minuten unterhalten, dann das Gemisch abgekühlt und kaltes Wasser hinzugegossen. Die obere Flüssigkeitsschicht goss ich hierauf ab, schüttete dann über die zu Boden gesenkte Oelschicht wiederum kaltes Wasser und liess das Ganze stehen. Nach einigen Minuten oder Stunden erstarrt die ölige Masse zu Krystallen; diese müssen auf Fliesspapier liegen gelassen werden, damit die Mutterlauge von dem Papier abgesogen wird, und dann aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt werden.

Bei der Condensation von Fettsäuren und Phenolen mittelst Chlorzink erhielt ich stets Oxyketone; daher war ich sehr überrascht von dem Befunde, dass die schönen, farblosen Krystallblättchen sich in verdünnten Alkalien nur allmählich auflösen und dass durch Salzsäurezusatz zu der Lösung keine Ausfällung des unveränderten Productes stattfindet. Die Substanz war also zersetzt worden: hierbei erhielten wir nicht das Glycol $C_6H_4(OH)—CO—CH_2OH$, sondern wiederum das Phenol, welches bei der Destillation mit dem Wasserdampfe ausgeschieden wurde. Die Reaction ergab also kein Keton, sondern einen Ester $C_6H_5OCOCH_2Cl$, welcher von Prevost[1]) schon früher durch Einwirkung von Chloracetylchlorid auf Phenol dargestellt worden war.

Um ein anderes Condensationsmittel anzuwenden, erhitzte ich Phenol und Chloressigsäure in äquivalenten Mengen mit einer dem Gewicht nach der angewandten Menge Phenol entsprechenden Quantität Phosphoroxychlorid. Der Versuch wies nach, dass man, wenn dieses Gemisch im Wasserbade erhitzt wird, den nämlichen Körper, bei dessen Bildung hier sehr energische Salzsäureentwickelung stattfindet, erhält. Das Erhitzen muss so lange fortgesetzt werden, bis die Salzsäureentwickelung nachlässt und die homogene Flüssigkeit sich in zwei Schichten, eine obere, farblose und eine untere, röthlichgefärbte, theilt. Die Flüssigkeit wird abgekühlt, mit Wasser versetzt und dann das zu Boden gesunkene Oel unter der Schicht kalten Wassers stehen gelassen. Bei diesem Modus procedendi verläuft die Reaction prompter und erhielt man eine ausgiebigere Ausbeute. In kurzer Zeit erstarrt die ölige Masse; die Krystalle werden in gleicher Weise gereinigt, wie auch das mittelst Chlorzink erhaltene Product. Beide Präparate schmelzen bei 44°, und ihre Elementaranalyse ergab Zahlen, welche der Formel $C_6H_5—O—CO—CH_2Cl$ entsprechen.

0.1943 g der über Schwefelsäure getrockneten Substanz gaben beim Verbrennen mit Bleichromat 0.4022 g CO_2 und 0.0767 g H_2O, was 56.46 Proc. C und 4.37 Proc. H entspricht.

0.1888 g der Substanz, in zugeschmolzenem Rohr mit Salpetersäure und Silbernitrat erhitzt, gaben 0.1573 g Silberchlorid, was 0.0389 g Chlor = 20.50 Proc. Cl entspricht.

0.2505 g der mittelst Chlorzink dargestellten Substanz gaben 0.2088 g Silberchlorid, was 0.05163 g oder 20.61 Proc. Cl entspricht.

Die Formel $C_6H_5—O—CO—CH_2Cl$ verlangt 56.30 Proc. C, 4.10 Proc. H und 20.82 Proc. Cl.

[1]) Beilstein, Org. Chemie., 2. Aufl., **2**, 426.

In kaltem Wasser ist der Aether nicht löslich; beim Kochen geht ein geringer Theil in Lösung über, dabei verharzt jedoch die Substanz zum Theil. Sie ist mit Wasserdämpfen flüchtig. Das aufgesammelte und von den Krystallen abfiltrirte Destillat giebt mit Eisenchlorid violette Färbung, mit Bromwasser aber einen reichlichen Niederschlag. Der unveränderte Aether aber giebt, in verdünntem Alkohol gelöst, mit Eisenchlorid keine Färbung.

Was das Pyrogallol anbetrifft, so verhält es sich beim Erwärmen mit Chloressigsäure und Phosphoroxychlorid anders; es entsteht hierbei Chlorgallacetophenon. Die Methode, mittelst welcher man diese Substanz in beliebiger Quantität sich darstellen kann, ist folgende:

50 g Pyrogallol, 40 g Chloressigsäure und 40 g Phosphoroxychlorid (welch letzteres in einem Guss zugesetzt werden muss) werden im Wasserbade so lange erhitzt, bis die anfängliche hellrothe Färbung der Schmelze in eine bräunliche umschlägt und die gleichmässige Entwickelung der Salzsäure stürmisch zu werden beginnt. Die eingedichtete Schmelze wird nun mit dem doppelten Quantum Wasser versetzt und heiss filtrirt. Bei gelungener Operation erstarrt das Filtrat zu einer aus dünnen, farblosen, nadelähnlichen Krystallen bestehenden Masse. Die Krystalle werden weiter von der dunkel gefärbten Mutterlauge abfiltrirt, ausgepresst, dann aus heissem Wasser, dem man Thierkohle hinzusetzt, umkrystallisirt, wobei sie leicht in reiner Gestalt zu erhalten sind. Die Elementaranalyse der nach diesem Verfahren dargestellten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.3838 g der über Schwefelsäure getrockneten Substanz gaben beim Verbrennen mit Bleichromat und metallischem Silber in dem vorderen Theile des Verbrennungsrohrs 0.6661 g CO_2 und 0.1303 g H_2O, was 47.33 Proc. C und 3.77 Proc. H entspricht.

0.265 g der Substanz, mit Salpetersäure nach der Methode von Carius oxydirt, ergaben 0.187 g Silberchlorid, was 17.44 Proc. Cl entspricht.

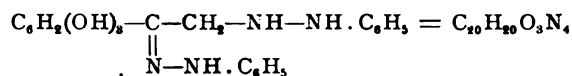
Die Formel $C_6H_2(OH)_3—CO—CH_2Cl = C_8H_7O_4Cl$ verlangt 47.41 Proc. C, 3.45 Proc. H und 17.56 Proc. Cl.

Chlorgallacetophenon schmilzt im Capillarrohre bei 167 bis 168°. In Alkohol, Aether und heissem Wasser löst es sich leicht auf, in kaltem Wasser dagegen schwer; aus heissem Wasser kann es also bequem umkrystallisirt werden. Jedoch ist allzu langdauerndes Kochen in wässeriger Lösung aus dem Grunde zu vermeiden, weil hierbei das Keton sich zersetzt; es wird Chlor abgespalten. Im Allgemeinen oxydirt sich das Pyrogallol leicht, das Keton aber verändert sich; im Chlorgallacetophenon kommt zu diesen Eigenschaften noch die äusserst leichte Abspaltbarkeit des Chloratoms. Es ist also nicht zu verwundern, dass diese Substanz in hohem Grade reactionsfähig ist. Um aus ihr Phenylhydrazon darzustellen, nahmen wir 5 g davon und etwas über die äquivalente Menge Phenylhydrazin und erhitzten sie in alkoholischer Lösung auf dem Wasserbade im Laufe von 20 Minuten. Das nach Wasserzusatz ausgeschiedene Product wurde dann mehrmals aus Alkohol umkrystallisirt. Auf diese Weise erhielten wir es in reiner Gestalt. Die Krystalle waren gelb gefärbt und schmolzen bei 197 bis 198°. Die Stickstoffbestimmung der über Schwefelsäure

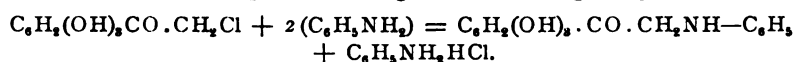
getrockneten Substanz wies nach, dass das Phenylhydrazin nicht nur den Sauerstoff, sondern auch das Chloratom des Ketons ersetzt hatte.

0.1943 g der Substanz gaben bei 26° und 714 mm Bst. 29.0 ccm N-Gas, was 15.20 Proc. N entspricht.

Die Formel

$$C_6H_2(OH)_3—\underset{\underset{N—NH.C_6H_5}{\|}}{C}—CH_2—NH—NH.C_6H_5 = C_{20}H_{20}O_3N_4$$

verlangt 15.22 Proc. N.

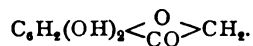
Werden 1 ccm Chlorgallacetophenon und 2 ccm Anilin in 50 bis 60 Proc. Alkohol gelöst und sehr kurze Zeit zum Sieden erhitzt, so findet die Wechselwirkung der beiden Substanzen fast quantitativ folgender Gleichung entsprechend statt:

$$C_6H_2(OH)_3CO.CH_2Cl + 2(C_6H_5NH_2) = C_6H_2(OH)_3.CO.CH_2NH—C_6H_5 + C_6H_5NH_2HCl.$$

Nach dem Erkalten der Lösung und Zusatz einer geringen Wasserquantität krystallisirt das Anilid in glänzenden rhombischen Blättchen. Sie müssen aus verdünntem Alkohol oder noch besser aus heissem Benzol umkrystallisirt werden. Der Körper schmilzt bei 132°. Die Kohlenstoffbestimmung der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0.2718 g gaben 0.6439 g CO_2 und 0.1254 g H_2O, was 64.61 Proc. C und 5.13 Proc. H ausmacht.

Die Formel $C_6H_2(OH)_3—CO—CH_2.NHC_6H_5$ verlangt 64.86 Proc. C und 5.02 Proc. H.

Unter Einwirkung von Aetznatron löst sich das Chlorgallacetophenon auf und nimmt hierbei eine gelbe Färbung, die jedoch bald in eine dunklere umschlägt, an. Kalkwasser färbt es gelbbraun, Barytwasser grünlich. In concentrirter Schwefelsäure gelöste Spuren des Ketons geben mit verdünnten Lösungen salpetersaurer Salze eine charakteristische violette Färbung. Thonerdebeizen werden von dem Keton gelb gefärbt, doch ist die Farbennüance eine nicht so schöne, wie diejenige, welche das Gallacetophenon giebt. Interessant ist das Verhalten dieses Körpers beim Kochen mit Calciumcarbonat: das Chlor wird zur Salzsäure, die übrige Substanz aber geht, wie die Elementaranalyse nachgewiesen hat, in eine Anhydridverbindung über, aller Wahrscheinlichkeit nach in das Dioxyphenylmethylenxanthon

$$C_6H_2(OH)_2<^{O}_{CO}>CH_2.$$

Um das Kalksalz zu erhalten, habe ich das Chlorgallacetophenon mit Calciumcarbonat bis zum Sieden erhitzt und das Filtrat bis zum Beginn der Krystallisation im Wasserbade eingeengt, hierbei erhielt ich kleine, prismatische Krystalle, welche jedoch weder Calcium noch Chlor enthielten. Aus heissem Wasser umkrystallisirt, ergaben sie beim Verbrennen folgende Zahlen:

0.2626 g der über Schwefelsäure getrockneten Substanz gaben 0.5538 g CO_2 und 0.0828 g H_2O, was 57.51 Proc. C und 3.50 Proc. H ausmacht. Die aus diesen Zahlen umgerechnete Formel $C_8H_6O_4$ verlangt 57.83 Proc. C und 3.61 Proc. H

Dieser Körper könnte als Anhydroglycogallol bezeichnet werden. Er ist in heissem Wasser leicht, in kaltem weniger leicht löslich und kann nicht so gut aus

Wasser umkrystallisirt werden, als wie das Chlorgallacetophenon. Er schmilzt bei 224° und wird hierbei zersetzt. Seine wässerige Lösung zeigt schwachsaure Reaction und reducirt in der Kälte Silber- und Kupferoxydsalze; mit Eisenchlorid giebt die Lösung, ähnlich dem Brenzcatechin, eine dunkelgrüne Färbung; auf Eisenbeize färbt sie Gewebe schwarz, auf Thonerdebeize aber gelb. Alkalien lösen den Körper leicht auf und erhalten von ihm eine gelbe Färbung, welche an der Luft dunkler wird.

Beim Erhitzen von Pyrogallol und Bromessigsäure mit Phosphoroxychlorid erhielt ich das Bromgallacetophenon (Schmelzpunkt 159°). Die Ausbeute des Reinproductes ist geringer, als wie im vorhergehenden Falle; nach Zersetzung der Schmelze mit Wasser wird das Keton mit Aether extrahirt. Letzteres Verfahren kann auch zur Darstellung des reinen Chlorketons angewandt werden.

Durch Zusammenwirkung anderer Phenole und halogensubstituirten Fettsäuren können wir noch eine ganze Reihe halogensubstituirter Oxyketone oder Ester erhalten. Die Untersuchung dieser Verbindungen wird fortgesetzt.

Ueber die Synthese einiger Ester und Ketone aus Phenolen und halogensubstituirten Fettsäuren

von

S. Dzierzgowski.

Mitgetheilt in der chemischen Versammlung in Petersburg am 4. März. Журналъ физико-химическаго Общества **25**, 154. — Nach dem Referate von Dr. A. Wihtol abgedruckt. Chem. Centralbl. **64**, II, 475.

1. Chloracetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2—CO—CH_2Cl$. Erhalten nach dem Vorgange von Prof. Nencki durch Erwärmen von Brenzcatechin mit Monochloressigsäure bei Gegenwart von Phosphoroxychlorid im Kolben auf dem Wasserbade (80 Proc. der theoretischen Ausbeute). Krystallisirt in farblosen Prismen mit 1 Mol. H_2O, das bei 110° entweicht; Schmelzpunkt 173°, leicht löslich in heissem Wasser, unlöslich in kaltem Wasser; leicht löslich in Alkohol, schwerer in Chloroform, Aether, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Die wässerige Lösung giebt mit $FeCl_3$ grüne Färbung, die durch Soda in Purpurroth übergeht. Reducirt Silber-, nicht Kupfersalze. In Lösungen der fixen und kohlensauren Alkalien leicht löslich mit gelber Farbe. Es besitzt stark saure Eigenschaften; wirkt antiseptisch und auf der Haut blasenziehend. Dasselbe Chlorketon wird auch aus Brenzcatechin und Chloracetylchlorid erhalten. Bei der Einwirkung des letzteren auf Pyrogallol entsteht in analoger Weise Chlorgallacetophenon. An Stelle des Phosphoroxychlorids lassen sich weder Zink- noch Aluminiumchlorid, noch Schwefelsäure anwenden, weil sie auch auf die entstehenden Ketone einwirken, wohl aber trockenes Chlorwasserstoffgas, wobei aber nur eine geringe Ausbeute erhalten wird. Der Essigester,

$C_6H_3(O.COCH_3)_2$—CO—CH_2Cl, wird erhalten nach Liebermann durch Erwärmen des Chlorketons in Essigsäureanhydrid bei Gegenwart von wasserfreiem, essigsaurem Natrium. Krystallisirt aus wässeriger Essigsäure in perlmutterglänzenden Schuppen mit dem Schmelzpunkt 95°. Unlöslich in Wasser, mit dem er bei langem Kochen zersetzt wird; leicht löslich in Alkohol, Aether und Chloroform. Giebt mit $FeCl_3$ keine Färbung; in Lösungen der fixen und kohlensauren Alkalien nicht löslich; zersetzt sich aber damit beim Kochen gelbfärbend.

2. Acetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO.CH_3. Beim Reduciren von Chloracetobrenzcatechin mit Zink und Salzsäure. Krystalle wasserfrei in farblosen, prismatischen Nadeln, die radial zu kugeligen Aggregaten gruppirt sind, Schmelzpunkt 116°. Leicht löslich in Wasser, Alkohol und Aether, wenig löslich in Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Die Bestimmung der Molekulardepression zeigt, dass die Bildung des entsprechenden Diketons ausgeschlossen ist; dieselbe gelang auch nicht bei Behandlung des Chlorketons mit Zinnchlorür. Giebt mit $FeCl_3$ Brenzcatechinreaction. Nach Analogie des Acetobrenzcatechins mit dem Acetoprotocatechon Neitzel's[1]) nimmt Verf. die Stellung C_6H_3(OH)(OH)(CO . CH_3) = 1 : 2 : 4 an. Der Essigester, $C_6H_3(O—COCH_3)_2$—CO.CH_3, erhalten nach Liebermann, krystallisirt in farblosen Blättchen, die bei 87° schmelzen. In Wasser unlöslich, leicht löslich in Essigsäure, Alkohol, Aether und Chloroform. Beim Kochen mit Wasser zersetzt er sich leicht. Alkoholische Lösung giebt mit $FeCl_3$ keine Färbung.

3. Bromacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2Br. Erhalten durch Erwärmen von Monobromessigsäure mit Brenzcatechin bei Gegenwart von Phosphoroxychlorid. Krystalle in farblosen, radial gruppirten Nadeln, Schmelzpunkt 167°. Leicht löslich in Alkohol und heissem Wasser; wenig löslich in Aether, Benzol, Chloroform. Giebt mit $FeCl_3$ Brenzcatechinreaction. Ist auch analog dem Chlorid mit Hülfe von trockener Salzsäure zu erhalten.

4. α-Chlorpropiobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CHCl—CH_3. Brenzcatechin und α-Chlorpropionsäure werden bei Gegenwart von Phosphoroxychlorid erwärmt, Zusatz von unbedeutender Menge von Zinkchlorid ist förderlich. Krystalle wasserfrei in farblosen Prismen, die bei 120° schmelzen. Leicht löslich in heissem, wenig löslich in kaltem Wasser; leicht löslich in Alkohol, Aether und Chloroform. In Alkalien löst es sich mit gelber Farbe. Mit $FeCl_3$ grüne Färbung.

5. α-Brompropiobrenzcatechin. Analog dem eben dargestellten, wobei zur Beschleunigung der Reaction 10 Proc. Zinkchlorid zugesetzt und gegen Ende auf dem Sandbade erwärmt wird. Farblose Nadeln, die bei 141° schmelzen. Das Keton ist leicht löslich in Alkohol und heissem Wasser, schwer in kaltem Wasser, leichter in Aether und Benzol; giebt mit $FeCl_3$ grüne Färbung.

6. α-Brombutyrobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO.CH_2.CHBr—CH_3. Darstellung analog dem vorigen. Krystalle wasserfrei in farblosen, bei 135° schmelzenden Nadeln, leicht löslich in Alkohol und heissem Wasser, sehr wenig

[1]) Ber. **24**, 2863.

löslich in kaltem Wasser, besonders leicht löslich in Aether und Benzol. Durch Alkalien gelb, durch $FeCl_3$ grün gefärbt.

7. Chloressigester des Guajacols, $C_6H_4(O.CH_3)(O.CO.CH_2Cl)$. Erhalten durch Erwärmen von Guajacol und Monochloressigsäure bei Gegenwart von Phosphoroxychlorid unter Zufügen von etwas Zinkchlorid. Krystalle aus 60 proc. Alkohol in farblosen, rhombischen Prismen, die bei 50° schmolzen und bei 258 bis 259° destillirten. Die alkoholische Lösung gab mit $FeCl_3$ keine Färbung. In Alkalien löste sich der Ester unter Zersetzung.

8. Chloressigester des Hydrochinons, $C_6H_4(O.CO.CH_2Cl)_2$. Nach obigem Verfahren dargestellt, wobei es dem Verfasser nicht gelang, den primären Ester $C_6H_4(OH)(O.CO.CH_2Cl)$ zu erhalten. Krystalle in farblosen, fettglänzenden Blättchen mit dem Schmelzpunkt 123°, destilliren über 300° unter partieller Zersetzung, unlöslich in Wasser und Alkalien, zersetzt sich beim Kochen leicht. Leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol; giebt mit $FeCl_3$ keine Färbung, wirkt erregend auf die Haut.

Resorcin mit Chloressigsäure zu condensiren, ist dem Verf. nicht gelungen. Verf. zieht den Schluss, dass Brenzcatechin und Pyrogallol (Nencki) beim Condensiren mit halogensubstituirten Fettsäuren halogensubstituirte Ketone geben, Phenol aber, Hydrochinon und Guajacol — Ester der betreffenden Säuren. Die Ketone aus α-Chlor- und α-Brompropionsäure und α-Brombuttersäure erwiesen sich trotz des asymmetrischen Kohlenstoffatoms als inactiv.

Ueber einige basische Derivate des Chloracetobrenzcatechins und Chlorgallacetophenons

von

S. Dzierzgowski.

Mitgetheilt in der chemischen Versammlung in Petersburg am 8. April. Журналъ физико-химическаго Общества **25**, 275. — Nach dem Referate von Dr. A. Wihtol abgedruckt. Chem. Centralbl. **64**, II, 861.

Durch Behandeln des Chloracetobrenzcatechins mit alkoholischem Ammoniak im Ueberschuss wird das Ammonsalz, $C_6H_3(ONH_4)(OH)—CO.CH_2Cl + {}^1/_2 H_2O$, in citronengelben, flachen Prismen erhalten. Schmelzpunkt 111°; leicht löslich in Wasser und heissem Alkohol, wenig löslich in kaltem Alkohol, fast unlöslich in Aether und Benzol. Durch Säuren zersetzt es sich unter Abscheidung des Ketons, durch Alkalien unter Entbindung von Ammoniak. $FeCl_3$ giebt Brenzcatechinreaction (kirschrothe, bei Ueberschuss von $FeCl_3$ dunkelgrüne Färbung). In gleicher Weise wird das Ammonsalz des Gallacetophenons erhalten, Schmelzpunkt 89°. Bräunlichgelbe Krystalle, die in ihrem Verhalten mit den vorigen über-

einstimmen. Dem Ammoniak vollkommen analog wirkt Methylamin auf die beiden Chloroxyketone ein.

Anders reagiren die Ketone mit Dimethylamin; beim Einwirken von 2 Mol. des letzteren auf 1 Mol. Chloracetobrenzcatechin (in Alkohol) wird das Amin erhalten. Das bei Gegenwart von Oxalsäure erhaltene Oxalsäuresalz des Dimethylamidoacetobrenzcatechins, $C_6H_3(OH)_2$—CO—$CH_2N(CH_3)_2$, krystallisirt in farblosen Prismen, die unter partieller Zersetzung bei 235° schmelzen. Leicht löslich in heissem Wasser, wenig löslich in kaltem Wasser und Alkohol. Giebt mit $FeCl_3$ Brenzcatechinreaction. In fixen und kohlensauren Alkalien leicht löslich. Das wie oben oder durch Zersetzung dieses mit Calciumchlorid erhaltene salzsaure Salz krystallisirt in farblosen Prismen, die bei 232° schmelzen, leicht löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol. Dimethylamidoacetopyrogallol, $C_6H_2(OH)_3$—CO—$CH_2N(CH_3)_2$. Das oxalsaure Salz, in obiger Weise erhalten, krystallisirt in farblosen, bei 190° schmelzenden Prismen; leicht löslich in heissem Wasser, wenig löslich in kaltem Wasser und Alkohol. Das weinsaure Salz schmilzt bei 205 bis 206° und zeigt analoge Eigenschaften.

Anilidacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2—NH . C_6H_5. Das Anilin, obgleich eine primäre Base, ersetzt im Chloroxyketon ein Cl der Seitenkette, anstatt eines Salzes ein Ketoanilid bildend. Krystallisirt aus Alkohol in flachen, gelblichgrünen Prismen, die bei 149° schmelzen, aus Chloroform in gelben sechsseitigen Tafeln. Leicht löslich in Alkohol, schwer löslich in heissem Wasser, etwas leichter in Aether, Benzol und Chloroform. Beim Kochen mit fixen Alkalien zersetzt. Giebt mit $FeCl_3$ grüne Färbung, mit HNO_2 grüngelbe Nitrosoverbindung. Das o-Toluidacetobrenzcatechin bildet gelbe, sechsseitige Prismen, die bei 157° schmelzen; die p-Verbindung schmilzt bei 103°. Methylanilidoacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2—$N(CH_3)C_6H_5$. Grünlichgelbe, prismatische Krystalle, die bei 155° schmelzen. Leicht löslich in Alkohol, wenig löslich in heissem Wasser, etwas leichter in Aether und Chloroform. Beim Kochen mit fixen Alkalien zersetzt. Das salzsaure Salz bildet farblose, bei 172° schmelzende Prismen; leicht löslich in Wasser, ziemlich wenig löslich in Alkohol. Methylanilidoacetopyrogallol, $C_6H_2(OH)_3$—CO—CH_2—$N(CH_3)C_6H_5$. Krystallisirt in gelben, bei 168° schmelzenden Täfelchen, in heissem Wasser ziemlich wenig löslich; leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether und Chloroform. Verhält sich zu Alkalien wie die vorige. Das salzsaure Salz des Dimethylanilidoacetobrenzcatechins, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2—$N(CH_3)_2 . C_6H_5Cl$, bildet farblose Prismen, die bei 162° schmelzen, leicht löslich in heissem Wasser, schwerer in kaltem Wasser und Alkohol. Beim Kochen mit fixen und kohlensauren Alkalien zersetzt. Das salzsaure Salz des Dimethylanilidoacetopyrogallols, $C_6H_2(OH)_3$—CO—CH_2—$N(CH_3)_2 . C_6H_5Cl$, bildet farblose Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser; Schmelzpunkt 123°; leicht löslich in heissem Wasser, bedeutend weniger in kaltem Wasser und Alkohol; fast unlöslich in Aether und Chloroform. Giebt mit $FeCl_3$ Pyrogallolreaction. Verhält sich zu Alkalien wie das vorige.

p-Amidophenetolacetopyrogallol, $C_6H_2(OH)_3$—CO—CH_2—NH . $C_6H_4(O . C_2H_5)$. Braungelbe, bei 144° schmelzende, tafelförmige Krystalle. Sehr

wenig löslich in Wasser, auch beim Kochen, leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether und Chloroform. In Säuren wenig löslich. Fixe und kohlensaure Alkalien lösen es ohne Zersetzung. Das salzsaure Salz des Chinolinacetobrenzcatechins, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2—$(NC_9H_7)Cl$, krystallisirt aus Wasser in gelblichen, bei 139° schmelzenden Prismen, wenig löslich in heissem und kaltem Wasser, leicht löslich in heissem Alkohol, sehr wenig in Aether und Chloroform. Durch ätzende Alkalien in der Kälte, durch kohlensaure beim Kochen zersetzt es sich. Das $PtCl_4$-Doppelsalz, wenig löslich in Alkohol, bildet kleine gelbe Nadeln; krystallisirt aus wässerigen Lösungen in braungelben, langen Prismen mit 2 Mol. Krystallwasser, das bei 110° entweicht; Schmelzpunkt 136°. Das salzsaure Salz des Chinolinacetopyrogallols, $C_6H_2(OH)_3$—CO—CH_2—$(NC_9H_7)Cl$, bildet gelbliche, bei 104° schmelzende Prismen. In Wasser wenig löslich, beim Kochen theilweise zersetzlich; leicht löslich in Alkohol, weniger in Benzol, Aether, Chloroform. Durch kohlensaure Alkalien zersetzt. Pyridinacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$–CO–CH_2–NC_5H_5OH; das salzsaure Salz krystallisirt in gelben, flachen Prismen, die unter Zersetzung bei 265° schmelzen. In kaltem Wasser wenig löslich, leichter in heissem Wasser und Alkohol. Aetzende Alkalien zersetzen es beim Kochen. Platindoppelsalz bildet kleine gelbe Nadeln; Schmelzpunkt unter Zersetzung bei über 200°. Wenig löslich in Alkohol, kaltem und heissem Wasser. Das schwefelsaure Salz krystallisirt in farblosen Prismen; Schmelzpunkt bei 151 bis 152°, leicht löslich in heissem Wasser, weniger in kaltem Wasser und Alkohol. Durch Zersetzung mit Baryumcarbonat wird die freie Base erhalten; kleine, gelbliche Prismen, die bei 188° schmelzen. Wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Wasser, leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether, Benzol, Chloroform. Durch Alkalien nur beim Kochen zersetzlich. Piperidinacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2$—CO—CH_2—NC_5H_{10}. Bräunlichgelbe Prismen, Schmelzpunkt bei 187 bis 188°. Wenig löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, weniger in Aether und Chloroform. Beim Kochen mit concentrirten Alkalien zersetzt. Das salzsaure Salz krystallisirt in farblosen Prismen, Schmelzpunkt 250°. Das schwefelsaure Salz bildet farblose quadratische Prismen, die bei 189° schmelzen. Das Platindoppelsalz schmilzt unter Zersetzung bei 205°; leicht löslich in Wasser, weniger in Alkohol. Das Piperidinsalz des Chlorgallacetophenons, $C_6H_2(OH)_2(O$—$NH_2C_5H_{10})$—CO—CH_2Cl, krystallisirt aus absolutem Alkohol in perlmutterglänzenden, citronengelben, quadratischen Täfelchen, deren Schmelzpunkt 101°. Sehr unbeständig.

Verf. schliesst, dass die primären und secundären Basen mit den Chlorketonen Salze dieser Ketone oder Ketonbasen geben, je nach dem Grade ihrer Basizität, die tertiären Basen aber salzsaure Salze der quaternären Ketonbasen liefern.

Beiträge zur Pharmakologie und Pharmacie einiger aromatischer Verbindungen

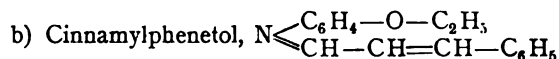
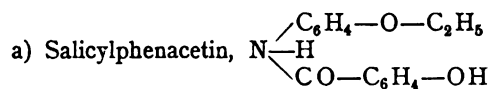
von

G. Schubenko.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Dr. A. Samojlow abgedruckt. Maly's Jahresber. **23**, 95.

Das von Prof. Nencki[1]) festgestellte pharmakodynamische Gesetz, nach welchem die toxischen Eigenschaften der aromatischen Verbindungen durch Einführen einer Carboxylgruppe schwächer werden oder sogar gänzlich schwinden, gab Veranlassung zu der in Rede stehenden Untersuchung. Es liegt auf der Hand, dass dieses Gesetz uns ein Mittel zur näheren Prüfung der pharmakologischen Wirkung einzelner chemischer Radicale giebt, sowie andererseits zur Construction neuer Arzneistoffe von beabsichtigter Wirkung führen kann. Verf. geht vom Acetanilid aus. Durch Verkettung der Salicylsäure und des Zimmtaldehyds mit Phenacetin gelangt man zu zwei Körpern, in denen sowohl die temperaturherabsetzende Gruppe des Phenacetins, als auch je eine neue pharmakologisch wirksame Gruppe enthalten ist; die zwei Körper sind:

a) Salicylphenacetin, $N\begin{cases} C_6H_4-O-C_2H_5 \\ H \\ CO-C_6H_4-OH \end{cases}$

b) Cinnamylphenetol, $N\begin{cases} C_6H_4-O-C_2H_5 \\ CH-CH{=}CH-C_6H_5 \end{cases}$

Durch Einwirken von Anilin auf die Chlorketone von Brenzcatechin und Pyrogallol gelangte Verf. zu zwei anderen Körpern, c) Anilidacetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2-CO.CH_2-NH.C_6H_5$, und d) Anilidacetopyrogallol, $C_6H_2(OH)_3-CO.CH_2-NH.C_6H_5$, deren Verwandtschaft zu Acetanilid nicht minder gross ist, wie die der Körper a) und b) zu Phenacetin. Was zunächst die Substanz a) anbetrifft, so könnte man von vornherein erwarten, dass diese in Folge der Verkettung von Phenacetin und der Salicylsäure eine weit grössere antifebrile und antirheumatische Wirkung entfalten würde, als die Salicylsäure allein. Die nähere Untersuchung ergab aber, dass der Körper a) im Organismus gar nicht zerlegt wird; das Verhältniss zwischen der freien und gepaarten Schwefelsäure des Harnes nach viertägiger Darreichung des Mittels (im Ganzen 8.0 g) beim Hunde blieb vollständig normal, andererseits konnte man im Menschenharne die Substanz als solche nachweisen. Ganz im Einklange damit stehen auch die Versuche über die Wirkung des Mittels auf Versuchsthiere, sowie auf Kranke; das Salicylphenacetin erwies sich trotz der theoretischen Erwägungen als eine ziemlich indifferente Substanz. Ein anderes Verhalten weist die Substanz b) auf. Das Verhältniss der freien und gepaarten Schwefelsäuren im Hundeharn war nach Darreichung von 24.0 g im Laufe einiger Tage gleich 2.7 : 1,

[1]) Nencki u. Boutmy, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **30**, 300. — Dieser Band S. 255.

während es vor der Einwirkung des Mittels 11.7 : 1 war. Ausserdem reducirte der Harn alkalische Kupferoxydlösung und nahm eine Purpurfärbung an bei Einwirkung von ammoniakalischer α-Naphtollösung und Natriumnitrit. Da weiter im Menschenharne sich auch eine grosse Benzoësäuremenge nachweisen liess, so muss angenommen werden, dass das Cinnamylphenetol im Körper in Zimmtaldehyd und Paraamidophenol zerfällt, wobei ersterer zu Benzoësäure oxydirt wird, während das zweite, mit Glycuronsäure und Schwefelsäure gepaart, den Körper verlässt. Ueber den therapeutischen Werth des Mittels lässt sich vor der Hand nichts Bestimmtes aussagen.

Die Substanz c) wurde einem Hunde von 18 kg im Laufe der ersten Tage zu je 1.0 g und im Laufe von vier folgenden Tagen zu je 2.0 g einverleibt. Der vom Hunde secernirte Harn reagirte neutral, enthielt kein Eiweiss und reducirte alkalische Kupferoxydlösung; auf Zusatz von Eisenchlorid entstand ein braungrünlicher Niederschlag. Das Verhältniss der freien und gepaarten Schwefelsäuren war 1 : 4.65. Auch beim Menschen bewirkt der Körper c) eine Steigerung der gepaarten Schwefelsäure im Harne. Dagegen gelang es weder im Menschen- noch im Hundeharn die Spaltungsproducte resp. das Anilid selbst nachzuweisen. Da das Anilid in einigen Fällen bei Kranken sich als schmerzlinderndes Mittel erwies, so wurde es pharmakologisch untersucht. Es stellte sich dabei im Allgemeinen heraus, dass sowohl beim Frosch wie auch beim Hunde die Reflexerregbarkeit und die Schmerzempfindlichkeit durch das Anilid herabgesetzt werden; Blutdruck, Puls und Athmung werden vom Mittel nicht beeinflusst. Es wäre auf Grund dieser Ergebnisse möglich, das Anilid als schmerzlinderndes Mittel bei Gelenkrheumatismus, Hyperästhesie u. s. w. zu empfehlen. Auch das andere Anilid d) bewirkt eine Steigerung der gepaarten Schwefelsäuren im Harne; es erleidet im Körper ebenfalls eine tiefgreifende Metamorphose und erscheint im Harne in einer Form, deren Feststellung dem Verf. trotz vieler Mühe nicht gelang. Ausserdem untersuchte Verf. noch das Paraoxybenzophenon, $C_6H_5—CO—C_6H_4OH$; diese Substanz bewirkt keine Steigerung der gepaarten Schwefelsäuren und wird unverändert ausgeschieden. Diese Verbindung besitzt eine antiseptische Wirkung.

Neuerung in der Herstellung von Salolen

von

M. Nencki und **F. v. Heyden.**

D. R.-P. Nr. 68111 vom 25. Februar 1892. Vierter Zusatz zum Patente 38973 vom 23. April 1886[1]). Ber. **26**, 560. Ref.

Salicylsaures Isobutylphenol (Schmelzp. 66 bis 68°), Isoamylphenol (Schmelzp. 76 bis 78°), Benzylphenol (Schmelzp. 102°), o-Thiokresol (Schmelzp. 36°) und Kreosot (flüssig), zimmtsaures Eugenol (Schmelzp. 90°) und Kreosot (von wechselndem Schmelzp.), benzoësaures Kreosot (flüssig) werden aus den betreffenden Säuren und

[1]) Dieser Band S. 65, 96, 126 u. 264.

Phenolen bezw. deren Salzen nach den in den Patentschriften 38973, 43713, 46756 und 57941 beschriebenen Verfahren mittelst Phosphorchloriden, Phosphoroxychlorid, Sulfurylchlorid, Chlorkohlenoxyd und sauren oder mehrfach schwefelsauren Alkalien oder aus den betreffenden Phenolen durch schon vorher fertig gebildetes Chlorid oder Anhydrid der Benzoësäure bezw. Zimmtsäure hergestellt.

Verfahren zur Darstellung von Xylenolsalol

von

M. Nencki und **F. v. Heyden.**

D. R.-P. 70487 vom 14. September 1892. Fünfter Zusatz zum Patent 38973 vom 23. April 1886. Ber. 26, 967. Ref.

Salicylsäure und Xylenol werden mit Phosphorpentachlorid oder Phosphoroxychlorid, Phosphortrichlorid, Sulfurylchlorid, sauren Alkalisulfaten nach dem Verfahren der Patente 38973 und 43713 erhitzt. Die Xylenolsalole gleichen in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften ganz den bekannten Salolen und sollen wie diese als Arzneistoffe, besonders für innerliche Desinfection dienen.

Ueber die Lanolinbestimmung nach dem Verfahren von H. Helbing und F. W. Passmore

von

S. Dzierzgowski.

Pharmaceut. Zeitschr. f. Russland (1893) Nr. 19 u. 20. — Nach dem Referate von Dr. Hefelmann abgedruckt. Chem. Centralbl. **64**, II, 101.

Die Methode von Helbing und Passmore hat nach Ansicht des Verf. zwei schwache Seiten; erstens lässt sich aus der Verseifungszahl des Lanolins die Natur oder der Grad der Verunreinigung nie ermitteln, denn es lassen sich Zusätze von Naphta u. s. w. mit Fett so combiniren, dass sie gleiche Zahlen zeigen wie reines Lanolin. Zweitens werden bei der Verseifung so geringe Unterschiede gefunden, dass diese diagnostisch nicht sicher zu verwerthen sind. Beide Ansichten sucht Verf. durch Beleganalysen zu begründen. Es wurde das Moskauer mit dem Berliner Lanolin verglichen, und gefunden, dass letzteres erheblich reiner ist, da es bei der das Lanolin nicht angreifenden Verseifung mit wässeriger Kalilauge auf 100 g nur 0.100 g KOH verbraucht, während 100 g des Moskauer Lanolins 0.626 g KOH

erfordern. Zur richtigen Beurtheilung eines Lanolins genügt die Verseifung mit alkoholischer KOH-Lösung nicht, diese ist vielmehr durch die Bestimmung der Verseifungszahl mittelst wässeriger Kalilauge zu controliren. Das Verfahren von Helbing und Passmore besitzt nur den Werth einer qualitativen, nicht aber den einer quantitativen Reinheitsprobe.

Sur la composition chimique de l'hématine et de l'hématoporphyrine

par

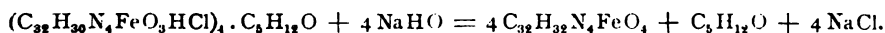
M. Nencki.

Arch. des sciences biologiques **2**, 121.

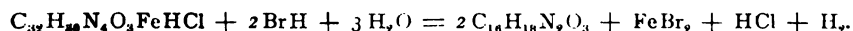
Nous avons fait avec M-me le Dr. Sieber, des recherches sur la matière colorante du sang, qui ont paru dans les Archiv f. Experim. Pathologie u. Pharmakologie, dans les Berliner chem. Berichte et dans le Wiener Monatshefte f. Chemie [1]). Nous avons démontré:

1. Que l'hémoglobine traitée par les acides dilués ou les alcalis absorbe l'oxygène et l'eau et se dédouble en matière albuminoïde — globine et en matière colorante — hématine. M. Lebensbaum [2]), qui a déterminé, dans mon laboratoire, à Berne, la quantité d'oxygène absorbée, a trouvé que 100 g d'oxyhémoglobine sèche absorbent, à cette décomposition, 1.1 g d'oxygène.

2. Que la décomposition de l'hémoglobine, à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'alcool amylique, entraine la précipitation du principe colorant de l'hémoglobine, sous forme des cristaux bien connus d'hémine. D'après nos expériences, nous avions exprimé la composition chimique de ces cristaux, par la formule $(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4 . C_5H_{12}O$ et nous avions fait remarquer que la teneur de ces cristaux en alcool amylique était constante, qu'on ne parvenait pas à l'éliminer par des lavages prolongés, soit avec de l'alcool soit avec de l'éther. L'hémine, s'emparant de l'eau et rendant l'acide chlorhydrique et l'alcool amylique, se transforme en hématine quand on fait dissoudre ces cristaux dans des solutions alcalines faibles. Cette transformation a lieu d'après l'équation suivante:

$$(C_{32}H_{30}N_4FeO_3HCl)_4 . C_5H_{12}O + 4\,NaHO = 4\,C_{32}H_{32}N_4FeO_4 + C_5H_{12}O + 4\,NaCl.$$

3. Que les cristaux d'hémine, additionnés de 15 volumes d'acide acétique glacial saturé d'acide bromhydrique, abandonnés ensuite pendant 24 heures et enfin chauffés au bain-marie, se dissolvent et que l'hémine, rendant le fer, se transforme en hématoporphyrine, d'après l'équation suivante:

$$C_{32}H_{30}N_4O_3FeHCl + 2\,BrH + 3\,H_2O = 2\,C_{16}H_{18}N_2O_3 + FeBr_2 + HCl + H_2.$$

---

[1]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **18**, 401; **20**, 325: **24**, 430. Ber. **17**, 2267. Monatshefte f. Chemie **9**, 115. — Nencki's Opera omnia **1**. 745, 789 und **2**. 74.

[2]) Wiener Monatshefte f. Chem. **8**, 165. — Dieser Band S. 42.

L'hématoporphyrine ainsi obtenue se dissout facilement dans les alcalis fixes ou carbonatés, dans les acides minéraux étendus et dans l'alcool; elle se dissout difficilement dans l'éther, l'alcool amylique et le chloroforme. Elle se combine avec l'acide chlorhydrique en formant un sel $C_{16}H_{18}N_2O_3HCl$ cristallisant parfaitement. Avec la soude caustique, elle donne un sel cristallin dont la formule est $C_{16}H_{17}NaN_2O_3 + H_2O$; les sels amorphes, insolubles dans l'eau, qu'elle forme avec les métaux lourds, ont la même composition. La détermination du poids moléculaire, par la méthode de Raoul, en dissolvant avec du phénol, avait donné des nombres correspondants à la formule: $C_{16}H_{18}N_2O_3$ [1]).

Les résultats de nos expériences, en partie inattendus, ne trouvèrent pas à ce moment une critique bienveillante, car ils s'écartaient trop de l'opinion généralement admise à cette époque sur la composition de ce dérivé de la matière colorante du sang, opinion qui s'était formée à la suite des recherches de M. Hoppe-Seyler. Je m'efforçai alors de trouver la cause de la différence entre les résultats de nos analyses et ceux des analyses de M. Hoppe-Seyler et je crois l'avoir trouvée. M. Hoppe-Seyler n'avait pas remarqué que ses cristaux d'hémine, préparés à l'aide de l'acide acétique, contenaient cet acide à l'état de combinaison, de même que nos cristaux, préparés à l'aide de l'alcool amylique, contenaient une molécule d'alcool amylique pour 4 molécules d'hémine. M. Hoppe-Seyler [2]) a reconnu lui-même, par la suite, que les cristaux d'hémine, préparés par sa méthode, lavés soigneusement avec de l'alcool, de l'éther et de l'eau et ensuite séchés longtemps à 124° contenaient encore, néanmoins, 1.56 %, en poids, d'acide acétique. En outre, M. Hoppe-Seyler avait dosé le fer de l'hématine dans la même portion que le carbone et l'hydrogène: il faisait dissoudre, dans de l'acide, l'oxyde de fer qui était resté dans la nacelle et il le calcinait après l'avoir précipité. Or, en procédant de cette manière, il reste toujours une certaine quantité de cette matière dans le tube de combustion au-dessus de la nacelle; et, conséquemment, les chiffres obtenus seront forcément au-dessous de la vérité. Plus tard, à propos du mémoire de M. Cazeneuve, nous avons fait remarquer que nous avions toujours préparé notre hématine en décomposant des cristaux purs d'hémine avec des alcalis: ce procédé offre le plus de garanties pour obtenir une hématine pure, tandis que le procédé Cazeneuve consiste à préparer l'hématine directement de l'hémoglobine. Du reste, nous ne pouvions pas accorder grande importance à ses analyses. M. Cazeneuve a donné, dans sa thèse pour le doctorat [3]), deux dosages de fer et un dosage d'azote; plus tard, dans un nouveau travail [4]), il n'a ajouté, à ce qu'il avait donné dans sa thèse pour le doctorat, qu'un seul dosage de carbone et d'hydrogène. De cette manière, il a trouvé pour son hématine les chiffres suivants: $C = 64.18$ %, $H = 5.67$ %, $N = 9.03$ %, $Fe = 8.76$ %. Cet auteur a ensuite préparé le sel de baryte de l'hématine en prenant pour point de départ l'observation de M. Hoppe-Seyler

[1]) M. Nencki u. A. Rotschy, Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins und des Bilirubins. Monatshefte f. Chemie **10**, 568. — Dieser Band S. 127.

[2]) Hoppe-Seyler, Ber. **18**, 603.

[3]) Sur l'hématine, Thèse pour le doctorat en médecine. Paris 1876, p. 40.

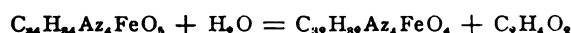
[4]) Bulletin de la Société chimique **27**, 486 (1877).

qu'une solution ammoniacale d'hématine laisse déposer des sels de chaux ou de baryte suivant qu'on la soumet à l'action du chlorure de chaux ou du chlorure de baryte. Ayant séché son sel de baryte à 130°, M. Cazeneuve a trouvé 9.85 % de baryum et 8.75 % de fer, c. à d. tout autant de fer que dans l'hématine libre! Et pourtant, sa formule $(C_{34}H_{34}N_4O_5Fe)_2Ba$ exige 7.97 % de fer et 9.75 % de baryum. Ainsi donc, l'analyse de M. Cazeneuve, tout au moins en ce qui concerne le fer, se rapproche plus de notre formule que de la sienne, car notre formule du sel de baryte de l'hématine $(C_{32}H_{31}N_4FeO_4)_2Ba$ exige 10.34 % de baryum et 8.5 % de fer.

Aussi, ai-je été fort surpris de lire dans la Chimie biologique de M. A. Gautier[1]), qui a paru récemment, que cet auteur, se basant sur les recherches de M.M. Hoppe-Seyler et Cazeneuve, donne à l'hématine la formule suivante: $C_{34}H_{34}N_4FeO_5$. Les motifs qu lui font rejeter notre formule $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$ sont assez naïfs. L'auteur donne d'abord la moyenne des analyses de M. Hoppe-Seyler, et rapporte ensuite l'unique analyse faite par M. Cazeneuve; ce qui donne le petit taubleau suivant:

	Hoppe-Seyler	Cazeneuve
C . . .	64.30	64.18
H . . .	5.50	5.67
N . . .	9.20	9.03
Fe . .	8.83	8.76
O . . .	12.17	12.58

Ensuite, M. Gautier continue comme suit: „La formule adoptée par Nencki $C_{32}H_{32}Az_4FeO_4$ demande: C = 64.86; H = 5.40; Az = 9.46; Fe = 9.46; O = 10.82. Elle ne saurait donc être adoptée parce que le fer (élément facile à doser) est trop élevé par rapport au fer expérimentalement obtenu. La formule $C_{34}H_{34}Az_4FeO_5$ presque identique à celle de M. Hoppe-Seyler (à 1 atome H près) demande: C = 64.35; H = 5.36; Az = 8.86; Fe = 8.85; O = 12.62. Elle répond donc le mieux possible aux analyses très concordantes de l'hématine. On peut, du reste, établir entre les deux formules ci dessus une relation théorique très simple:

$$C_{34}H_{34}Az_4FeO_5 + H_2O = C_{32}H_{32}Az_4FeO_4 + C_2H_4O_2$$

et l'on sait que l'acide acétique apparaît en même temps que l'hématine se produit".

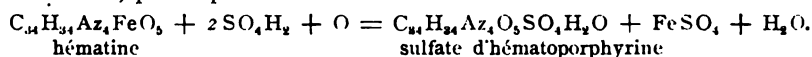
Conséquemment, on rejette notre formule parce qu'elle ne répond pas aux analyses de M.M. Hoppe-Seyler et Cazeneuve. Mais l'auteur passe sous silence que notre formule correspond parfaitement à nos analyses tant de l'hémine que de l'hématine, ainsi qu'on peut s'en convaincre pour l'hématine, par exemple, par le tableau suivant:

		C	H	Fe	N
1. Hématine de sang de bêtes bovines	1	64.98	5.61	9.36	9.40
2. „ „ „ „ cheval	2	64.99	5.62	9.29	9.34
	3	64.68	5.37	—	—
3. „ „ „ „ porc	4	65.04	5.53	9.29	—
	5	65.13	5.55	9.31	—

[1]) Cours de Chimie par Armand Gautier, t. III. Chimie biologique, Paris, 1892.

M. A. Gautier ne parle pas des erreurs d'analyse que nous avons signalées et dont M. Hoppe-Seyler [1]) a convenu, de même qu'il ne parle pas non plus de la contradiction que nous avons relevée, dans le travail de M. Cazeneuve, entre l'analyse de l'hématine libre et l'analyse de son sel de baryum.

L'auteur n'est pas beaucoup plus heureux avec l'hématoporphyrine, quoique la formule empirique de ce corps $C_{16}H_{18}N_2O_3$ ait été établie par nous, d'après les analyses de la substance libre, du sel cristallin qu'il forme avec l'acide chlorhydrique, de ses combinaisons métalliques et enfin par la détermination de son poids moléculaire. Il faut supposer que M. A. Gautier ignore que l'hématoporphyrine obtenue dans une solution acétique saturée d'acide bromhydrique diffère essentiellement de l'hématoporphyrine que l'on obtient par l'action de l'acide sulfurique concentré sur l'hémine ou l'hématine. Nous considérons ce deuxième corps comme l'anhydrite de l'hématoporphyrine: $2\,C_{16}H_{18}N_2O_3 = C_{32}H_{34}N_4O_5 + H_2O$ et, en vertu de nos analyses, nous lui avons donné la formule $C_{32}H_{34}N_4O_5$ [2]). M. Gautier donne à l'hématoporphyrine la formule $C_{34}H_{34}Az_4O_5$ et explique la formation de ce corps, avec l'hématine, par l'équation suivante:

$$\underset{\text{hématine}}{C_{34}H_{34}Az_4FeO_5} + 2\,SO_4H_2 + O = \underset{\text{sulfate d'hématoporphyrine}}{C_{34}H_{34}Az_4O_5SO_4H_2O} + FeSO_4 + H_2O.$$

Mais cette oxydation de l'hématine en hématoporphyrine a été réfutée, depuis longtemps, par divers auteurs, car M. Hoppe-Seyler avait déjà démontré que même les acides faibles donnent, en l'absence d'oxygène, de l'hématoporphyrine avec l'hémochromogène. D'autre part, je me suis assuré par des expériences directes qu'il se forme de l'hématoporphyrine et du sulfate de fer — SO_4Fe — et qu'il n'y a pas d'absorption d'oxygène quand on dissout l'hémine dans l'acide sulfurique concentré.

C'est bien malgré moi que je me suis résolu à faire cette rectification. Pour moi personnellement, les formules et les équations de M. Gautier me sont tout aussi indifférentes que, par exemple, ses équations fantastiques sur les réactions de la décomposition de l'oxyhémoglobine (p. 393 de l'ouvrage cité). J'aurais préféré n'en point parler; mais dans ce cas j'aurais risqué d'être soupçonné d'un consentement tacite, car „qui tacet, consentire videtur", tandis que je ne désire nullement que les résultats de nos recherches qui nous ont coûté beaucoup de temps et de travail soient exposés sous une forme défigurée et fausse.

Tout en insistant, de même qu'auparavant, sur toutes les conclusions ci-dessus énoncées de nos recherches, je suis loin de croire que l'étude de la matière colorante du sang et de ses dérivés soit terminée. Le fait que l'hydrate de l'hématoporphyrine a pour composition $C_{16}H_{18}N_2O_3$ fait penser que le produit le plus proche de la décomposition de l'hémoglobine, l'hémochromogène de M. Hoppe-Seyler, pourrait bien avoir une composition relativement aussi simple. Il reste encore une question qui n'est pas résolue: c'est celle de la position de l'atome de chlore dans la molécule de l'hémine: est-il lié à l'hydrogéne, avec lequel il formerait de l'acide chlorhydrique ou au fer? la dernière supposition a quelques données pour elle. Ce sont là des questions que j'ai l'intention d'étudier, dès que le temps et les circonstances me le permettront.

[1]) Hoppe-Seyler, l. c.

[2]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **20**, 330. — Nencki's Opera omnia **1**, 793.

Ueber den Magensaft und das Pepsin bei Hunden

von

C. Schumow-Simanowski.

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 336. — Arch. des sciences biol. **2**, 463. — Gazeta Lekarska Nr. 48 u. 49 (1893).

Vor zwei Jahren schon gelang es uns, in Gemeinschaft mit Herrn Prof. Pawlow, bei der Untersuchung der Magendrüsen bei Hunden auf reflectorischem Wege eine reichliche Absonderung von reinem Magensaft zu erhalten [1]). Abgesehen von einer kleinen Menge von Schleim, war dieser Saft ohne jede Beimischung, eine ganz durchsichtige, farblose, saure Flüssigkeit, die bei niedriger Temperatur sich trübte. Bei 0° setzte sich die Trübung auf dem Boden des Gefässes als körnige, homogene Masse ab. Es lagen mehrere Gründe vor, anzunehmen, dass dieser Niederschlag das verdauende Princip, d. h. das Pepsin sei, oder dass es wenigstens zum grössten Theil aus diesem Körper bestehe. Von diesem Gesichtspunkte sind wir bei dieser Arbeit ausgegangen und haben versucht, ob es nicht möglich wäre, nach unserem Verfahren Pepsin in reinem Zustande und in hinreichender Menge darzustellen, um die Zusammensetzung dieser Substanz zu ermitteln, die, obgleich seit lange bekannt, nie genauer untersucht wurde.

Man muss indessen bemerken, dass die Menge des Niederschlages, die sich unter der Einwirkung von Kälte absetzt, nicht die gleiche ist bei verschiedenen Portionen des Saftes verschiedener Hunde. So trübt sich der Saft und giebt manchmal einen Niederschlag schon bei Zimmertemperatur; in anderen Fällen selbst unter 0° zeigt er eine kaum sichtbare Trübung, die sich gar nicht absetzt. Es hängt dies augenscheinlich von der Concentration des Saftes ab. Aber es scheint mir, dass die Individualität des Thieres und die Art der Ernährung dabei auch eine Rolle spielen. Auf alle Fälle, um eine für genaue Untersuchung genügende Menge des Niederschlages zu erhalten, bedurfte es grosser Mengen reinen Magensaftes, und das war nur möglich unter den für die Arbeit sehr günstigen Bedingungen in unserem Institute. Trotzdem sind wir auf verschiedene Schwierigkeiten gestossen, so dass unsere im Herbst 1891 angefangene Arbeit erst im Sommer 1893 vollendet wurde.

Der Saft wurde gewonnen nach einem schon früher mit Herrn J. Pawlow angewendeten Verfahren, das wir „die Scheinfütterung“ nannten [2]). Man legte den Hunden eine Magenfistel an. Nach drei bis vier Wochen, wenn die Ränder der Wunde sich gut der Canüle anschlossen, wurden die Hunde öso gotomirt. Meistens vertrugen die Hunde diese Operation gut und konnten nach einigen Tagen Magensaft abgeben, zuweilen auch später, erst nach zw drei Wochen. Nach dieser zweiten Operation, da die Thiere sich selbst nic

[1]) Врачъ 1890, Nr. 41.

[2]) Siehe Archives des sciences biologiques de St. Petersbourg **1**, 595 (

nähren konnten, musste man ihnen die feste Nahrung direct durch die Fistel in den Magen einführen, die flüssigen Nahrungsmittel hingegen durch die untere Oeffnung in der Speiseröhre mit Hülfe einer Sonde. Die tägliche Ration bestand aus 700 g Fleisch, 600 g Brot, 1000 bis 1200 ccm Milch und ebenso viel Wasser, das in zwei Malen, des Morgens zwischen 7 und 8 Uhr und des Abends zwischen 5 und 7 Uhr, verabreicht wurde. Die Thiere gewöhnten sich rasch daran, dass ihnen der Saft entzogen wurde, und spürten nichts davon, wenn man ihn in kleinen Portionen von 160 bis 300 ccm und in bestimmten Zeiträumen, alle zwei bis drei Tage z. B., entnahm. Gut gehaltene Thiere verlieren nicht nur nicht an Gewicht, sie nehmen im Gegentheil mit der Zeit zu und befinden sich wohl.

In den meisten Fällen wurde der Saft erst 15 bis 17 Stunden nach einer Fleischmahlzeit und vier bis fünf Stunden nach Wasserzufuhr entnommen. Der Magen war immer leer, höchstens dass er etwas Schleim enthielt, der leicht zu entfernen war. Man placirte das Thier in ein Gestell, damit es ruhig bliebe, und gab ihm in kleine Stücke geschnittenes Fleisch, welche es gierig verschluckte und die sofort durch das Loch der Speiseröhre fielen. Die Absonderung des Saftes fing nach sechs bis sieben Minuten an, vermehrte sich langsam, steigerte sich bis zu 25 ccm in fünf Minuten und hielt an während der ganzen Dauer des Experiments, das man mehrere Stunden fortsetzen konnte, und gewann so stündlich 150 bis 300 ccm eines ganz reinen Productes, frei von fremden Substanzen, wie: Speichel, Speisereste und Darminhalt. Selten und nur für Augenblicke enthält der Saft Galle, hauptsächlich wenn das Thier sehr erregt ist, sich gierig auf das Fleisch wirft, es nicht gehörig schluckt, sich verschluckt und sich anstrengt, um zu erbrechen. Wenn die Gallenabsonderung länger dauerte, hörte man auf, den Saft zu entnehmen; ebenso benutzten wir auch nicht die ersten 5 bis 10 ccm, wenn sie nicht ganz rein waren. Am Anfang unserer Arbeit benutzten wir den Saft von verschiedenen Hunden aus dem Laboratorium von Prof. Pawlow, wofür ich ihm meinen besten Dank ausspreche; später benutzten wir den Saft von nur einem Hunde, entnommen in Portionen von 150 bis 300 ccm zweimal wöchentlich, zuweilen alle zwei Tage. Der entnommene Saft wurde sofort filtrirt; ein Theil diente dazu, die Dichte, den Säure- und Chlorgehalt, den festen Rückstand, die Asche, das Albumin u. s. w. zu bestimmen; der andere, grösste Theil wurde an die Kälte gestellt, um den Niederschlag zu gewinnen.

Ehe wir daran gehen, einen wesentlichen Theil des Magensaftes, d. h. den Niederschlag zu beschreiben, erlauben wir uns, einige Bemerkungen über die allgemeinen Eigenschaften des erhaltenen Saftes zu machen. Um Wiederholungen zu vermeiden — denn es giebt gegenwärtig schon einige Arbeiten über diesen Gegenstand, z. B. die von Herrn Dr. Kettscher[1]), Herrn Dr. Sanótzky[2]) und von Herrn Konowalow[3]) —, sagen wir nur einige Worte und berühren hauptsächlich die Punkte, die in den oben genannten Arbeiten nicht erwähnt sind.

[1]) Reflexe der Mundhöhle. Inaug.-Dissert. St. Petersburg 1890 (russisch).

[2]) Ueber den Reiz der Ausscheidung des Magensaftes. Inaug.-Dissert. St. Petersburg 1892.

[3]) Die im Handel vorkommenden Pepsine verglichen mit normalem Magensaft. Inaug.-Dissert. St. Petersburg 1893.

Die ganz klare, saure Flüssigkeit ohne jeden fremden Beigeschmack, im Pyknometer bestimmt, hatte die Dichte von 1.003 bis 1.0059. Der Saft mit höherer Dichte gab in der Kälte mehr Niederschlag. Man muss indessen bemerken, dass die Dichte des Saftes, nachdem er abgesetzt hatte, sich nicht wesentlich änderte. Das erklärt sich leicht durch die geringe Menge des Niederschlages, welche man in der Kälte aus dem Saft erhält, da der Haupttheil in Lösung bleibt. Der frische Magensaft dreht das polarisirte Licht nach links. Der Drehungswinkel in 2 Decimeter langer Schicht war gleich 0.7 bis 0.75°. Er giebt keine Biuretreaction, invertirt den Rohrzucker, hat keine Wirkung auf Stärke, giebt keine Violettfärbung mit Brom, enthält weder Leucin noch Tyrosin. Zuweilen enthält er Spuren von flüchtigen Fettsäuren. Salpetersäure giebt immer die Xanthoproteïnreaction mit dem frischen Magensafte. Der trockene Rückstand schwankte zwischen 0.292 und 0.60 Proc. und die Asche zwischen 0.10 und 0.160 Proc. Der trockene Rückstand vermindert sich nach Entfernung des in der Kälte gewonnenen Niederschlages. Vor Entfernung des Niederschlages betrug er z. B. 0.536 und 0.496 Proc., nach der Entfernung 0.520, resp. 0.466 Proc. Die Aschenmenge variirt nicht merklich nach Entfernung des in der Kälte gewonnenen Niederschlages, so dass es scheint, als ob die Asche in dem flüssigen Theil des Saftes enthalten sei. Sie giebt Eisen- und Kalkreaction und enthält Phosphorsäure. In meinen Versuchen schwankte der Säuregehalt zwischen 0.46 und 0.58 Proc. (Man titrirte mit einer decinormalen Lösung von Aetznatron und Lackmustinctur als Indicator und rechnete die Säure auf Salzsäure um.)

Die verdauende Kraft des Saftes, nach der Vorschrift von Mette gemessen, schwankte zwischen $5^1/_2$ bis $7^1/_2$ mm in 10 Stunden bei 36°; bei Zimmertemperatur war sie beträchtlich schwächer. Das Fibrin wurde selbst bei 0° in zwei Stunden oder etwas darüber durch diesen Saft verdaut. Der Saft bewahrt diese Eigenschaft, ohne merkliche Aenderung, während $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ Monaten; dann nimmt sie nach und nach ab; das hängt von der Temperatur ab, bei welcher der Saft aufgehoben wurde[1]). Aber die verdauende Kraft vermindert sich nach und nach, selbst wenn der Saft auf Eis gehalten wird. Hatte vorher der Saft in der Kälte einen Niederschlag gegeben, so giebt er, einige Monate aufbewahrt, keinen mehr. Hat der Saft die Fähigkeit, Eiweiss zu verdauen, verloren, so zeigt er starke Biuretreaction und gerinnt nicht mehr, weder beim Kochen noch mit absolutem Alkohol.

Bei niedriger Temperatur trübt sich der Saft rasch; beim ruhigen Stehen setzt sich nach und nach die Trübung ab, und es giebt drei Schichten: die erste ist durchsichtig, die mittlere ist trübe, und die untere wird durch den Niederschlag gebildet. Wir haben beobachtet, dass der Säure- und Chlorgehalt (mit Silbernitrat und chromsaurem Kali titrirt) nach unten zu sich vermehrt. So enthielt z. B. die obere Schicht 0.45 Proc. Säure, die untere 0.63 Proc., oder wenn die obere Schicht 0.4 Proc. enthielt, so war der Säuregehalt der mittleren = 0.45 Proc. und der unteren = 1.1 Proc. Ebenso ist es mit dem Chlor: davon enthielt z. B. die obere Schicht 0.7 Proc., die mittlere 1.00 Proc. Es folgt daraus, dass der Niederschlag, indem er

[1]) Dr. Kettscher, l. c.

sich absetzt, eine grosse Menge Chlorwasserstoffsäure mit sich reisst. Man kann sich davon überzeugen durch die folgende Beobachtung: Eine Portion (15 ccm) der unteren Schicht blieb acht Monate bei Zimmertemperatur stehen. Nach Ablauf dieser Zeit war die Flüssigkeit ganz klar, ohne Spur von Niederschlag. Der Saft im frischen Zustande hatte folgende Zusammensetzung: Säure 0.54 Proc., Chlor 0.62 Proc., feste Bestandtheile 0.496 Proc., Asche 0.16 Proc.; jetzt war der Säuregehalt 1.058 Proc., Chlor 1.125 Proc., feste Bestandtheile 0.9 Proc. und Asche 0.16 Proc. Die Probe hatte keine Einwirkung auf Albumin mehr, löste aber leicht Fibrin.

Der Magensaft, im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet, entwickelte reichliche Chlorwasserstoffdämpfe, was leicht zu constatiren war beim Lüften der Glocke. Dies beweist am deutlichsten das Vorhandensein einer grossen Menge freier Salzsäure. Man constatirt auch das Freiwerden von freier Salzsäure beim Verdunsten bei 20 bis 30° im Dzierzgowski'schen Apparat[1]), wo die Säure in einer alkalischen titrirten Lösung aufgefangen wird. Nichtsdestoweniger wird in beiden Fällen die Säure nicht ganz frei, und die im Apparat zurückbleibende Flüssigkeit besitzt noch stark saure Reaction (1.1 Proc. und mehr). Beim Verdunsten von 50 ccm Flüssigkeit auf 8 ccm über Schwefelsäure oder von 350 ccm auf 20 ccm im Apparat von Dzierzgowski erhält man eine leicht getrübte Flüssigkeit, die im ersteren Fall einen schwarzen Niederschlag (gebräunt unter dem Einfluss der Säure) enthielt und im zweiten Fall einen weisslichen Niederschlag. Der erstere ist dunkelbraun, giebt starke Biuretreaction und verdaut Eiweiss nicht. Der im Dzierzgowski'schen Apparat bis auf ein sehr kleines Volumen eingedampfte Saft hinterlässt an den Wänden des Apparates eine grosse Menge eines weisslichen Niederschlages, den man zum Theil mit Wasser loslösen kann und der, wie die Untersuchung zeigte, mit dem durch Abkühlen gewonnenen Niederschlage identisch ist.

Wie man weiss, giebt der frische Saft mit absolutem Alkohol einen reichlichen Niederschlag von Eiweiss. Frisch löst sich dieser Niederschlag in mit Salzsäure angesäuertem Wasser bei 37°, und in diesem Zustande verdaut er Eiweiss. Bei 58 bis 60° gerinnt der Saft. Im Filtrate davon bewirkt absoluter Alkohol manchmal einen merklichen Niederschlag; aber wie wir in der Folge sahen, geschieht dies nur, wenn der Saft nicht absolut frisch ist, während der nüchternen Thieren entnommene frische Saft, erhitzt und filtrirt, mit Alkohol nur eine schwache Opalescenz giebt.

Wenn man das Gewicht der Albuminniederschläge ein und desselben Saftes, durch absoluten Alkohol oder durch Erhitzen erhalten, vergleicht, so zeigt sich, dass der Niederschlag durch Alkohol oft viel beträchtlicher ist, als der durch Erhitzen erhaltene. So gab die Menge des durch Alkohol coagulirten Albumins folgende Zahlen: 0.12, 0.13, 0.135, 0.10, 0.062, 0.025, während das durch Erhitzen coagulirte Eiweiss correspondirend folgende Zahlen ergab: 0.08, 0.12, 0.11, 0.094, 0.04, 0.011.

Diese Thatsache erklärt sich dadurch, dass erstens eine kleine Menge Eiweiss sich unter dem Einfluss der Säure und des Kochens in Albumose umsetzen kann, und zweitens, weil das durch Alkohol coagulirte Eiweiss mechanisch einen Theil der Asche mit sich reisst.

[1]) Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **11**, 685. — Dieser Band S. 333.

Die Thatsache, dass der Saft mit der Zeit sein Verdauungsvermögen verliert und nach längerem Stehen weder durch Alkohol noch durch Erhitzen coagulirt, kann dadurch erklärt werden, dass das Ferment sich wahrscheinlich mit der Zeit und unter dem Einfluss der Säure in Albumose umwandelt, welche in der Hitze nicht gerinnt und kein Eiweiss verdaut.

Der vorsichtig neutralisirte Saft giebt einen flockigen Niederschlag, der sich sofort löst, wenn die Flüssigkeit ganz neutral wird. Diesen Niederschlag aus frischem Saft zu erhalten, ist sehr schwer, am besten noch, wenn man im Dzierzgowski'schen Apparate 1500 ccm Saft bei 21° auf 250 ccm verdunstet und vorsichtig neutralisirt. Dieser Niederschlag (ungewaschen) löst sich in Glycerin, in leicht angesäuertem Wasser und zeigt schwaches Verdauungsvermögen. Der so concentrirte Saft hatte 2.55 Proc. Säure; beim Erwärmen trübte er sich leicht. Langsam neutralisirt, färbte er sich roth. Im Spectroskop zeigte die rothe Lösung keine charakteristischen Streifen.

Wie mir scheint, geht das verdauende Princip des Saftes nicht durch die Membran des Dialysators. Der Versuch wurde mit 20 ccm dicken, trüben Saftes und 60 ccm destillirten Wassers angestellt und dauerte 24 Stunden. Die Flüssigkeit des Dialysators blieb trübe, der Säuregehalt fiel von 0.56 auf 0.12, die dialysirte Menge hatte keine Einwirkung auf Eiweiss, während sie Fibrin in drei Stunden löste. Alkohol bewirkt darin keinen Niederschlag; Erhitzen ruft keine Coagulation hervor.

Unter dem Einfluss des galvanischen Stromes verliert der Saft sein Verdauungsvermögen, wahrscheinlich in Folge der Zersetzung der Salzsäure.

Von unseren zahlreichen Analysen der verschiedenen Saftmengen bringen wir in der unten stehenden Tabelle nur die vollständigsten:

	1	2	3	4	5
Saftmenge	400	250	500	500	1300
Dichte	1.0041	1.0041	1.00419	1.00408	1.00409
Säure in Procenten	0.584	0.58	0.46	0.467	0.54
Chlor in Procenten	0.589	0.57	0.51	0.489	0.62
Fester Rückstand in Procenten	0.428	0.536	0.6	0.58	0.496
Asche in Procenten	0.16	0.140	0.114	0.094	0.166
Coagulum durch Alkohol in Procenten	0.18	0.187	0.189	0.138	0.158
Coagulum durch Erhitzen in Procenten	0.16	0.165	0.178	0.128	0.16
Niederschlag bei 0° in Procenten	0.0114	0.0032	—	—	0.0144
Phosphorsäure in Procenten	—	0.00398	—	—	0.0036
Nach Entfernung des erhaltenen Niederschlages bei 0°.					
Dichte	1.00409	1.0041	—	—	1.0041
Säure in Procenten	0.42	0.48	—	—	0.44
Fester Rückstand in Procenten	0.412	0.52	—	—	0.466
Asche in Procenten	0.16	0.14	—	—	0.16
Chlor in Procenten	0.43	0.465	—	—	0.45

	1	2	3	4	5
Nach Entfernung des durch Alkohol erhaltenen Niederschlages.					
Säure in Procenten	0.54	—	0.43	0.428	0.485
Fester Rückstand in Procenten	0.229	0.335	0.395	0.425	0.331
Asche in Procenten	0.14	0.134	0.098	0.085	0.158
Nach Entfernung des durch Erhitzen bewirkten Niederschlages.					
Säure in Procenten	—	—	0.44	0.435	0.475
Fester Rückstand in Procenten	0.268	0.334	0.40	0.42	0.33
Asche in Procenten	0.15	0.139	0.09	0.09	0.15

Nachdem wir die allgemeinen Eigenschaften des Magensaftes studirt haben, gehen wir zum Niederschlage — dem verdauenden Princip und seiner Zusammensetzung über. Man kann diesen Niederschlag auf folgende drei Arten erhalten: 1. durch Verdunsten des Saftes im Vacuum im Apparat des Herrn Dzierzgowski bei 21 bis 30° setzt sich der Körper an die Wände des Apparates als schmutzig-weisser Niederschlag ab, 2. durch Sättigen des Magensaftes mit neutralen Salzen; Ammoniumsulfat giebt hierbei das beste Resultat, und 3. beim Abkühlen des Saftes bei 0°. In diesem Falle setzt sich das verdauende Agens auf dem Boden des Gefässes in kleinen homogenen Körnchen von 2 bis 3 μ Durchmesser stark lichtbrechend ab. Es gelang uns, eine bestimmte Menge von verdauendem Agens aus dem Saft nach allen drei Verfahren zu erhalten.

Das in der Kälte gewonnene Product war das reinste, ich habe mich hauptsächlich mit dem Studium desselben beschäftigt. Unglücklicher Weise war die Menge so gering, dass bei dem Studium seiner Zusammensetzung ich mich nur auf die Hauptsache beschränken musste.

Die günstigsten Bedingungen, um die grösste Menge Niederschlag zu erhalten, sind folgende: Man lässt den frisch gewonnenen und filtrirten Saft bei einer Temperatur von 0° stehen; er trübt sich rasch und erstarrt hierauf zu einem Eisklumpen. Nach einiger Zeit lässt man ihn bei gewöhnlicher Temperatur aufthauen, aber so, dass noch etwas Eis im Gefäss bleibt. Während des Schmelzens setzt sich der Niederschlag ziemlich leicht am Boden des Gefässes ab, eine trübe Schicht zurücklassend, die man leicht in ein anderes Glas übergiessen kann; zum zweiten Mal in die Kälte gebracht, trübt es sich beim Erstarren von Neuem. Das kommt daher, dass ein Theil des Niederschlages sich bei der Zimmertemperatur gelöst hat. Wenn man ihn aufthauen lässt, erhält man noch eine kleine Menge Niederschlag. Man muss diese Operation mehrmals wiederholen (namentlich wenn die Flüssigkeit nicht sorgfältig decantirt war), bis sich der Niederschlag in nicht mehr beachtenswerthen Mengen absetzt. Der frische Saft setzt leichter ab, als der mehrere Tage alte, welcher zuweilen nur Spuren von Niederschlag giebt.

Alle Reactionen der so erhaltenen Substanz zeigen, dass sie im strictesten Sinne zu den Eiweissstoffen gehört. Der frisch gewonnene Niederschlag trocknet leicht auf dem Filter, hat immer saure Reaction, ist leicht löslich in Wasser, verdaut Eiweiss

bei verschiedenen Säuregraden und hauptsächlich, wenn derselbe sich zwischen 0.2 und 0.6 Proc. befindet; dieser Niederschlag löst sich leicht in Glycerin von verschiedener Concentration, und die Glycerinlösung behält die Fähigkeit, Eiweiss bei Gegenwart von Säure zu verdauen. Die wässerige Lösung dieses Niederschlages giebt in der Kälte eine beträchtliche Trübung; erhitzt, coagulirt sie bei 60°. Alle bekannten Eiweissreagentien, wie Essigsäure und Ferrocyankalium, Tannin, Alkohol, Metallsalze, bewirken charakteristische Niederschläge in der wässerigen Lösung unserer Substanz. Das Millon'sche Reagens giebt die charakteristische rothe Färbung. Auf Platinblech verbrannt, riecht sie nach verbranntem Horn. Mit Kupferoxyd erhitzt, färbt sie die Flamme grün, ein Beweis, dass die Substanz Chlor enthält. Man konnte vermuthen, dass unsere Substanz in ihrem Molekül Chlorwasserstoffsäure in sehr unbeständiger Verbindung enthielte, so dass wir riskirt hätten, beim zu langen Waschen des Niederschlages einen Theil des Chlors zu verlieren. Um jeden Verlust an Chlor zu vermeiden, wurde ein Theil des in der Kälte gewonnenen Niederschlages abfiltrirt und ohne ihn zu waschen noch feucht auf ein Uhrglas gebracht und bis zu constantem Gewicht im Exsiccator, über Schwefelsäure und Aetzkalk, um die freie Chlorwasserstoffsäure zu entfernen, falls solche vorhanden war, getrocknet. Der andere Theil des auf das Filter gebrachten Niederschlages wurde, mit eiskaltem Alkohol gewaschen, auf ein Uhrglas gebracht und während 24 Stunden im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Dann wurde der trockene, im Mörser mit absolutem Alkohol zerriebene Rückstand auf dem Filter so lange mit absolutem Alkohol gewaschen, bis er keine saure Reaction mehr gab. Endlich im Exsiccator bis zu constantem Gewicht getrocknet, wurde er, ebenso wie der nicht mit Alkohol gewaschene Niederschlag, analysirt.

Ehe wir zu den Resultaten der Analysen übergehen, will ich noch einige Worte über die Eigenschaften dieses Productes vorausschicken. Der voluminöse, gelblichweisse Niederschlag verliert bedeutend an Volumen, wenn er trocken ist, und wird grüngrau oder braun, wenn er schlecht gewaschen ist; sorgfältig mit Alkohol gewaschen ist er von einem leicht grün angehauchten Weiss. Im trockenen Zustande hat er immer die Günzburg'sche Reaction auf freie Salzsäure gegeben. In 0.6 proc. Salzsäure bei Bruttemperatur löst er sich ziemlich leicht, wenn auch nicht vollkommen, auf. Nach wiederholten Waschungen mit Alkohol löst er sich weder in Wasser, noch in Glycerin, wohl aber in 0.6 proc. Salzsäure bei 37°. Unter dem Mikroskop sieht man, dass die Körnchen dieses Körpers in Glycerin sich rasch lösen, unlösliche Klümpchen zurücklassend. Diese Lösungen trüben sich beim Abkühlen auf 0°, aber die Trübung verschwindet wieder bei Zimmertemperatur. Alle diese Lösungen, leicht angesäuert, können Eiweiss verdauen. Diese Eigenschaften zeigen deutlich, dass der so erhaltene Körper das verdauende Agens des Saftes ist, obgleich vielleicht leicht modificirt. Es ist wahrscheinlich, dass ein Theil der Substanz beim Trocknen unlöslich wird. Wir bemerken noch, dass unsere beiden Producte unwägbare Menge Asche enthielten.

Wir haben Chlor, Schwefel und Phosphor nach der Methode von Carius bestimmt. Nach Abfiltriren des Chlorsilbers wurde das Filtrat und das Waschwasser auf dem Wasserbade verdampft, um den grössten Theil der Salpetersäure zu entfernen,

dann der Rückstand in Wasser gelöst und mit Chlorbaryum gefällt. Die vom Baryumsulfat befreite Flüssigkeit und das Waschwasser wurden noch einmal im Wasserbade verdunstet, dann mit wenig Wasser aufgenommen und heiss mit der Molybdänsäurelösung versetzt. Die mit Alkohol nicht ausgewaschene Substanz gab nach 24 Stunden einen geringen Niederschlag von Phosphormolybdänsäure, die reine Substanz aber setzte auch nach 24 stündigem Stehen keinen gelben Niederschlag ab.

So erhielten wir für die beiden über Schwefelsäure und Aetzkalk im Exsiccator bis zu constantem Gewichte getrockneten Producte folgende Zahlen:

1. 0.2724 g des mit Alkohol nicht gewaschenen Productes gaben 0.0288 Chlorsilber und 0.0194 Barytsulfat, oder 2.31 Proc. Chlor und 0.978 Proc. Schwefel.

2. Mit Alkohol gewaschene Substanz: 0.1561 g gaben 0.2904 g Kohlensäure oder 50.73 Proc. C und 0.1017 g Wasser oder 7.23 Proc. H.

0.2609 g der Substanz gaben 0.0123 g Chlorsilber oder 1.16 Proc. Chlor.

Da aus dem Saft nur ein kleiner Theil des Pepsins durch die Kälte abgeschieden wird und der grössere Theil in Lösung bleibt, so versuchte ich es, durch Sättigen der filtrirten Flüssigkeit mit einem neutralen Salz abzuscheiden, und erhielt in der That einen beträchtlichen Niederschlag, der bis zum gewissen Grade alle Eigenschaften des in der Kälte gewonnenen Niederschlages hatte. Wir sättigten frischen Magensaft, sowie auch das Filtrat von dem durch die Kälte erhaltenen Niederschlage mit reinem umkrystallisirtem Ammoniumsulfat und liessen die Mischung bei 0° stehen. Nach Verlauf von mehreren Stunden bildet sich ein weisser Niederschlag, der sich gut absetzt und den man leicht durch Filtration trennen kann. Das Filtrat von diesem Niederschlage enthält kein Eiweiss und verdaut nicht mehr. Der abfiltrirte Niederschlag wird mit einer gesättigten Lösung von Ammonsulfat gewaschen und auf einem Uhrglase im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Nach dem Trocknen wurde er mit destillirtem Wasser gewaschen, wodurch der grösste Theil des schwefelsauren Ammons entfernt wurde, da die eiweissartigen Partikeln, bevor sie sich lösen, zuerst aufquellen. Ein beträchtlicher Verlust an Substanz war dabei unvermeidlich. Der ausgewaschene Niederschlag wurde im Exsiccator über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet. Trocken, war er grünlich-braun, gab immer die Günzburg'sche Reaction, war in Wasser fast unlöslich und verdaute nicht. Angesäuert, löst er sich leicht bei Körpertemperatur und verdaut in 17 Stunden 5, 8 bis 9 mm lange Schicht Eiweiss; die Lösung trübt sich in der Kälte. Wir haben zwei Portionen dieses Niederschlages erhalten; die eine enthielt 13.38 Proc. $SO_4(NH_4)_2$ und 1.132 Proc. Asche (hauptsächlich aus Kalkphosphat bestehend); die andere enthielt 8.1 Proc. $SO_4(NH_4)_2$ und 0.59 Proc. Asche.

In diesen Niederschlägen haben wir direct Schwefelsäure bestimmt. Zu diesem Zweck haben wir eine abgewogene Menge der Substanz in 0.6 Proc. Chlorwasserstoffsäure gelöst, die Lösung zum Kochen erhitzt, durch Filtration das coagulirte Eiweiss abgetrennt und so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine saure Reaction mehr gab; darauf wurde das letztere auf dem Wasserbade ein wenig eingedampft und mit Chlorbaryum gefällt. Der Niederschlag von Baryumsulfat wurde gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Aus der erhaltenen Menge Baryumsulfat wurde die Menge des Schwefels berechnet, die nachher von der bei der Bestimmung in der

Substanz nach der Carius'schen Methode erhaltenen Gesammtschwefelmenge abgezogen wurde. Der Stickstoff und Wasserstoff des Ammonsulfats wurden ebenfalls von dem bei der Elementaranalyse gefundenen Stickstoff abgezogen. In allen meinen Analysen habe ich den Stickstoff volumetrisch nach Dumas bestimmt.

So haben wir für die Zusammensetzung dieser Niederschläge folgende Zahlen erhalten:

	Nr. 1 Proc.	Nr. 2 Proc.
Asche	1.13	0.59
Ammonsulfat	13.38	8.10

und in dem Niederschlage nach Abzug der Asche und des Ammonsulfats:

	Nr. 1	Nr. 2
Chlor	0.80	0.89
Schwefel	1.35	1.24
Kohlenstoff	50.37	—
Wasserstoff	6.88	—
Stickstoff	14.55	15.0

Aus dem Vorangegangenen geht hervor, dass die durch die Kälte oder durch Sättigung erhaltenen Niederschläge die Eigenschaft haben, Eiweiss zu verdauen, und dass sie folglich den eigentlich wirksamen Theil des Magensaftes, d. h. das Pepsin selbst ausmachen.

Man ersieht aus der Elementaranalyse dieser Substanz, dass das Pepsin zur Gruppe der wahren Eiweissstoffe gehört, die durch Einwirkung von Wärme gerinnen. Charakteristisch für das Pepsin ist es, dass es in seinem Molekül Chlor enthält.

Um den Vergleich zu erleichtern, gebe ich die Analysen von beiden Niederschlägen, sowohl von dem durch Einwirkung von Kälte gewonnenen, als von dem durch Sättigung mit Ammoniumsulfat. Obgleich die Darstellung dieser beiden Producte sehr verschieden ist, ist offenbar ihre chemische Zusammensetzung die gleiche:

	Pepsin durch Kälte Proc.	Pepsin durch Ammoniumsulfat Proc.
Kohlenstoff	50.73	50.37
Wasserstoff	7.23	6.88
Chlor	1.17 u. 1.01	0.89 u. 0.89
Schwefel	0.98	1.35 u. 1.24
Stickstoff	—	14.55 u. 15.0

Die aus dem nicht gewaschenen Niederschlage erhaltene Chlormenge betrug 2.31 Proc., aber es ist sicher, dass die Chlorwasserstoffsäure nicht ganz entfernt war. Dennoch ist es zweifellos, dass das Chlor im Molekül des Pepsins selbst enthalten ist, denn die ausgewaschenen reinen Producte enthielten davon bis zu 1 Proc., und zwar

mit ziemlicher Uebereinstimmung in den beiden auf so verschiedene Weise erhaltenen Präparaten.

Das Pepsin bleibt nicht lange im Magensaft, ohne eine Umwandlung zu erleiden. Weder der in der Kälte gewonnene Niederschlag, noch der frische Magensaft geben die Biuretreaction; aber dieselbe tritt nach mehrstündlichem Stehen bei Zimmertemperatur ein. Die verdauende Kraft und die Niederschlagsmenge in der Kälte vermindern sich in dem Maasse, als die Biuretreaction stärker wird. Die Schnelligkeit dieser Veränderung hängt von der Temperatur ab. Ungeachtet dieser progressiven Verminderung des Verdauungsvermögens behält der Magensaft von Hunden die Kraft, zu verdauen, noch nach 8, 9 und selbst 10 Monaten und fault nicht, dank seinem grossen Säuregehalt.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Schleimhaut des Magens auch Pepsinkörnchen enthält, ähnlich denen, welche in der Kälte aus dem Magensaft sich abscheiden, denn zuweilen gelingt es, direct aus dem Magen, bei Beginn der Entziehung, einen trüben Saft zu gewinnen. Wenn die Ausscheidung zunimmt, verschwindet die Trübung, und der Saft wird klar, eine Thatsache, die Herr Prof. J. Pawlow auch zuweilen beobachtet hat. Es scheint, als ob die Herren A. Béchamp[1]) und A. Gautier[2]) auch vor uns in Form von Körnchen ein Pepsin gewonnen haben, dem unserigen in der Kälte gewonnenen sehr ähnlich. Aber während der erstere der beiden Autoren diese Körner „Mikrozymas“ nennt und glaubt, „dass sie Organisation und Leben haben und den Zweck haben, in den Pepsindrüsen das lösliche Pepsin zu bilden“, glaubt Herr A. Gautier im Gegentheil, „dass diese Granulationen ein chemisches Ferment sind, ein unlösliches Pepsin ohne Organisation und Leben, das langsam im Wasser durch eine Reihe rein chemischer Reactionen das lösliche Pepsin hervorbringt“. Die Angabe des Herrn Gautier, dass diese Granulationen eine krystallisirbare, im Aether lösliche und stickstoffhaltige Säure, frei von Phosphor und Schwefel enthalten, habe ich nicht bestätigen können. Auf alle Fälle waren die Producte beider Autoren weniger rein als die unserigen. Was die Beobachtung des Herrn Gautier anbetrifft, dass der durch Porcellan filtrirte Magensaft fast die Hälfte des Verdauungsvermögens verliert, so kann ich dieselbe bestätigen, da ich hierüber mehrere Versuche gemacht habe: das Porcellanfilter hält das Pepsin sowie auch einen Theil der Säure zurück.

Es bleibt uns noch einige Worte zu sagen über die Veränderungen des Hundeharns unter dem Einfluss von beträchtlichen Verlusten an Magensaft. Diese Versuche sind weit davon entfernt, beendet zu sein, aber dessen ungeachtet führen wir sie hier an. Man konnte a priori annehmen, dass der Verlust an Magensaft von 150 bis 500 ccm auf einmal, der dem Organismus 0.75 bis 2.5 g Chlorwasserstoffsäure entzieht, nicht ohne Einwirkung auf die Functionen desselben bleiben kann und folglich auch die Zusammensetzung des Urins beeinflussen muss. In der That wird der Urin sofort trübe, seine Menge geringer — die Dichte ist sehr erhöht. Er setzt Trippelphosphatkrystalle ab, mit Essigsäure braust er auf, indem eine grosse

[1]) Compt. rend. **94**, 582.

[2]) Ebenda **94**, 652 u. 1192.

Menge Kohlensäure frei wird; er enthält eine kleine Menge Gallenpigment. Man findet darin weder Zucker, noch Eiweiss [1]), noch Pepton oder Albumosen. Der Harn enthält kein Chlor, zuweilen nur Spuren des letzteren Körpers. Seine Reaction ist stark alkalisch, zuweilen bis zu 0.96 bis 1.31 Proc. auf Aetznatron berechnet.

Es war nun interessant, bei Hunden, denen Magensaft entzogen wurde und die in Folge dessen kein Chlor im Harne hatten, den Gehalt des letzteren an Kalium- und Natriumcarbonat zu bestimmen. Der Versuch zeigte, dass die beiden Alkalicarbonate in grosser Menge im Harne enthalten waren. Wir haben auch eine gewisse Vermehrung von Harnsäure darin nach Entziehung des Magensaftes beobachtet, die von 0.0077 auf 0.014 Proc. stieg. Um zu sehen, ob der Harn dieser Hunde noch andere Veränderungen erleidet, haben wir mehrere detaillirte Harnanalysen gemacht, sowohl in vor als nach Magensaftentziehung erhaltenem Harne. Der Hund, der zu diesen Versuchen diente, hatte die Gewohnheit angenommen, den Harn zu bestimmten Stunden in ein untergehaltenes Glas zu lassen, so dass in den meisten Fällen wir über den Harn von 24 Stunden verfügen konnten. Da wir den Saft zwischen 12 und 2 Uhr entnahmen, zählten wir den Tag von 12 bis 12 Uhr Mittags. Der Harn wurde dreimal entleert: die erste Portion von 12 Uhr bis 6 Uhr Abends (Tagesmenge), die zweite von 6 Uhr Abends bis 6 Uhr Morgens (Nachtmenge) und die dritte von 6 Uhr Morgens bis 12 Uhr (Morgenmenge). Dementsprechend endigte der Tag mit dem um 12 Uhr aufgefangenen Urin, unmittelbar vor der Saftentnahme.

So haben wir die vergleichenden Tabellen (a. f. S.) für die verschiedenen Urinmengen vor und nach der Saftentziehung erhalten. Säuregrad berechnet auf Chlorwasserstoffsäure, Alkalinität auf Aetznatron.

Wie man sieht, enthielt während der ganzen Zeit der Harn kein Chlor; und für die Gesundheit des Thieres fürchtend, setzten wir zu seiner gewöhnlichen Nahrung bis zu 4 g Kochsalz hinzu, ihm am Abend das grösste Quantum verabreichend. Tabelle II zeigt die Analysen des unter diesen Bedingungen vor und nach der Saftentnahme aufgefangenen Harns.

Um die Verschiedenheiten zu zeigen, die der Harn in 24 Stunden zeigte vor und nach der Saftentziehung bei Zufuhr von 4 g Kochsalz täglich, füge ich noch die Tabelle III hinzu.

Diese Tabellen sind in verschiedener Hinsicht interessant. Sie zeigen deutlich, dass der Organismus, der die Chlorwasserstoffsäure im entzogenen Magensafte verloren, diesen Verlust durch die Kohlensäure im Harn deckt. Der für gewöhnlich schwach saure oder neutrale Hundeharn wird alkalisch wie bei den Pflanzenfressern, was hauptsächlich durch seinen Gehalt an Alkalicarbonaten bedingt ist. Die Menge der Phosphorsäure vermehrt sich nicht bemerkbar nach der Saftentnahme. Ebenso wie die Herren Salkowski, M. Nencki und Hahn [2]), kann auch ich bestätigen, dass mit der alkalischen Reaction des Hundeharns eine stärkere Harnsäureaus-

[1]) Der Harn einiger Hunde enthielt eine beträchtliche Menge Eiweiss; das schien aber nicht mit der Saftentziehung zusammen zu hängen, denn es waren kranke Hunde, die einer Darmfellentzündung erlagen.

[2]) Archives des sciences biologiques **1**, 450. — Dieser Band S. 315.

T[...]

Tag	Harnportion	Harnmenge	Spec. Gewicht	Reaction		NH_3[...]
				in Proc.	Total	in Proc.
				Sauer		
1. März	1. am Tage	110	1.011	0.09	0.1	0.1[...]
	2. Nachts	200	1.010	Neutral		0.1
2. „	3. Morgens Urin verloren					
				Alkalisch		
2. „	1. am Tage	200	1.037	0.157	0.314	0.1
	2. Nachts	200	1.038	0.08	0.16	—
3. „	3. Morgens	100	1.030	0.08	0.08	0.12

T[...]

Tag	Harnportion	Harnmenge	Spec. Gewicht	Reaction		NH_3		
				in Proc.	Total	in Proc.	Total	in Pro[...]
9. März	2. Nachts	320	1.025	Neutral		—	—	—
				Sauer				
10. „	3. Morgens	192	1.011	0.056	0.11	0.13	0.25	0.0[...]
				Alkalisch				
10. „	1. Tags	95	—	0.72	0.7	0.04	0.04	0.1[...]
	2. Nachts	290	1.036	0.12	0.34	—	—	0.5[...]

T[...]

Tag	Harnportion	Harnmenge	Spec. Gewicht	Reaction		NH_3		
				in Proc.	Total	in Proc.	Total	in Pro[...]
				Sauer				
23. März	Vor Saftsammlung in 24 Stunden	650	1.022	0.078	0.517	0.097	0.63	0.1[...]
				Alkalisch				
24. „	Nach Saftsammlung in 24 Stunden	470	1.038	0.12	0.564	0.087	0.408	0.[...]
				Sauer				
13. April	Vor Saftsammlung in 24 Stunden	650	1.027	0.055	0.357	0.1	0.65	0.1[...]
				Alkalisch				
14. „	Nach Saftsammlung in 24 Stunden	465	1.040	0.24	1.11	0.012	0.055	0.2[...]

O	Na_2O		Cl	Bemerkungen
Total	in Proc.	Total		
0.018	0.041	0.05	Nicht bestimmbare Mengen	Magensaft wurde gesammelt am 2. März von 12 bis 1 h im Ganzen 280 ccm. Säuregrad = 0.46 Proc.
0.074	0.05	0.1		
0.156	0.57	1.14	0	
—	—	—	0	
0.079	0.59	0.59	0	

	Cl		$C_5H_4N_4O_3$		P_2O_5		Bemerkungen
al	in Proc.	Total	in Proc.	Total	in Proc.	Total	
·	0.388	1.24	—	—	—	—	Magensaft wurde gesammelt am 10. März von 12 bis 2 h 350 ccm. Säure = 0.54 Proc.
55	0.12	0.2	0.003	0.006	0.28	0.53	
ı	Spuren	Spuren	0.015	0.014	0.54	0.51	
›	0.13	0.34	0.09	0.26	0.38	1.13	

	Cl		$C_5H_4N_4O_3$		P_2O_5		$CO(NH_2)_2$		Bemerkungen
l	in Proc.	Total	in Proc.	Total	in Proc.	Total	in Proc.	Total	
	0.34	2.21	0.008	0.052	0.28	1.82	3.89	25.31	Es wurden 400 ccm Saft gesammelt. Säure = 0.54 Proc.
	0.15	0.75	0.017	0.079	0.4	1.88	6.35	29.84	
	0.26	1.7	0.009	0.06	0.26	1.69	4.94	32.1	Es wurden 385 ccm sammelt. Säure = 0.
	Spuren	Spuren	0.014	0.068	0.38	1.74	6.63	30.4	

scheidung sich einstellt; aber diese Vermehrung ist bei Weitem nicht genügend, den Alkaliüberschuss zu decken. Unter den Alkalien variirt das Ammoniak nicht merklich vor oder nach der Saftentziehung, während der Gehalt an Kali nach derselben sich merklich steigert. So erhöht sich z. B. (Tab. I) die Menge des Kali von 0.037 Proc. auf 0.078 und (Tab. II) von 0.018 Proc. auf 0.14; ja selbst auf 0.55 Proc. in dem Nachtharne. Aber hauptsächlich zeigte das Natriumcarbonat die grösste Vermehrung im Harne nach Saftentziehung. Selbst als der Hund seine gewöhnliche Nahrung, ohne Zusatz von Kochsalz erhielt, stieg die Natronmenge von 0.045 g auf 0.58 g (Mittel aus zwei Versuchen, Tab. I). Wir sehen auf Tabelle II, dass sie von 0.034 g auf 0.96 g stieg. Ebenso in Tabelle III, wo wir es mit der Urinmenge vom ganzen Tage zu thun haben. In einem Falle stieg der Natrongehalt von ursprünglich 0.1 auf 0.84 g unmittelbar nach der Saftentnahme und in einem anderen Falle von 0.32 auf 0.55 Proc.

Es folgt daraus, dass das durch den Verlust an Chlorwasserstoffsäure im Organismus freigewordene Alkali im Harn als Alkalicarbonat ausgeschieden wird. Das führt uns zu dem Schluss, dass das Kochsalz sich in den Magendrüsen selbst in Soda und Chlorwasserstoffsäure zersetzt. Es ist dies, wie bekannt, die Ansicht, welche gegenwärtig vorherrschend ist, und meine Beobachtungen bestätigen das vollständig. Wir wollen hoffen, dass fernere Versuche dazu führen werden, den chemischen Mechanismus der Kochsalzzersetzung in den Magendrüsen vollkommen aufzuklären.

Es sei uns gestattet, an dieser Stelle den Herren Proff. Nencki und Pawlow unseren Dank auszusprechen für ihre wohlwollenden und werthvollen Rathschläge.

Sur l'action physiologique du méthylmercaptan

par

L. Rekowski.

I.

Arch. des sciences biolog. **2**, 205.

Le méthylmercaptan $CH_3 . HS$ a été obtenu, il y a environ soixante ans, par la méthode bien connue de Liebig, qui consiste à distiller du sulfhydrate acide de potassium avec du méthylsulfate de potassium[1]). L'étude chimique de ce corps a été faite plusieurs fois[2]); mais ce n'est que depuis peu de temps que M. Peter Klason[3]). chimiste suédois, a réussi à l'obtenir à l'état pur et a donné une description exacte de ses propriétés physiques ainsi qu'une méthode simple pour le préparer. D'après les données de cet auteur, le méthylmercaptan, à la température ordinaire, est un

[1]) Gregory, Liebig's Ann. d. Chem. u. Pharm. **15**, 2, 3, 9.
[2]) Obermeyer, Ber. **20**, 2918.
[3]) Peter Klason, Ebenda **20**, 3408.

corps gazeux; comprimé, il se présente sous forme d'un liquide incolore, très mobile, réfractant fortement la lumière et dégageant une odeur de putréfaction. Il bout à 5.8° sous une pression de 752 mm.; les moindres traces de sulfure de méthyle élèvent notablement sa température d'ébullition. Avec l'eau, le méthylmercaptan forme un hydrate cristallin qui se décompose à une température beaucoup plus élevée que celle de l'ébullition du méthylmercaptan.

Des travaux ultérieurs ont démontré que le méthylmercaptan se forme, par la fusion de diverses matières albuminoïdes avec de la potasse caustique, en quantités encore plus grandes que l'hydrogène sulfuré[1]), que c'est un produit constant de la putréfaction de matières albuminoïdes[2]), qu'il se trouve dans le gros intestin à l'état normal de digestion et que, dans quelques cas particuliers, il peut s'y accumuler en quantité considérable[3]). Ces faits m'ont engagé à étudier l'action de ce gaz sur l'organisme animal; car, jusqu'à présent, on n'avait pas encore fait d'études sur ce sujet.

J'ai préparé le méthylmercaptan d'après les indications de M. Klason, et je l'ai conservé, à l'état comprimé, dans les ampoules et des ballons fermés à la lampe. Dans les expériences d'inspiration de ce gaz, on mettait les animaux sous une cloche de verre à bords rodés, d'une capacité de 15 litres environ, qu'on ajustait sur une plaque de verre dépoli. La cloche était munie de deux robinets: l'un communiquant par un tube en forme de T avec un gazomètre rempli d'air et avec un petit flacon de lavage, par où passait le méthylmercaptan; l'autre—pour laisser sortir l'air contaminé de l'appareil. Pour régler le courant de ce gaz, on refroidissait et on réchauffait tour-à-tour le petit ballon où il était contenu à l'état comprimé, en plongeant ce dernier dans un mélange réfrigérant ou en le réchauffant par la chaleur de la main.

Après avoir placé l'animal sous la cloche, je laissais passer un courant lent et régulier d'air contenant des vapeurs de méthylmercaptan; le flacon de lavage, rempli d'eau, indiquait la vitesse du courant. Au sortir de la cloche, le méthylmercaptan était absorbé par une solution de potasse caustique. Traitant ensuite cette solution avec de l'acide chlorhydrique et recueillant le méthylmercaptan dans une solution de cyanure de mercure, je pouvais déterminer la quantité de ce gaz contenue dans l'air.

Les animaux manifestaient des signes d'inquiétude 1—2 minutes après le commencement de l'expérience. La muqueuse du museau et des oreilles devenait pâle et prenait bientôt la teinte gris-jaune de la cyanose, les prunelles se dilataient jusqu'à leur maximum, les aspirations atteignaient 140 à la minute, on voyait apparaître la salivation; puis l'inquiétude augmentait, les animaux évacuaient l'urine et les matières fécales, ils ne pouvaient ni se tenir debout ni rester couchés sur le ventre; ils tombaient tantôt sur un coté, tantôt sur l'autre. Bientôt après, apparaissait la paralysie de membres postérieurs; elle gagnait ensuite les membres antérieurs et les muscles du tronc. La respiration diminuait et cessait ensuite d'un coup. Dans quelques cas, peu de temps avant l'apparition des phénomènes paralytiques. les animaux étaient pris de crampes qui secouaient tout le corps. Finaler

[1]) N. Sieber et Schoubenko, Archives des Sciences biologiques **1**, 315. · Band S. 330.

[2]) M. Nencki und N. Sieber, Monatshefte f. Chemie **10**, 526. — Dieser Ban.

[3]) L. Nencki, Wiener Monatshefte f. Chemie **10**, 862. — Dieser Band S. 117.

tombaient dans un état comateux et, transportés à l'air, ils ne tardaient pas à succomber, parfois après avoir repris connaissance. Ce qui est caractéristique, c'est qu'on percevait, même une heure après l'expérience, l'odeur du mercaptan dans l'air qu'ils expiraient. A l'autopsie, on a constaté l'absence de la raideur cadavérique et l'odeur du mercaptan dans toutes les cavités du corps. La couleur foncée du sang, à teinte jaunâtre, et les modifications qui en résultent dans la coloration de différents organes, tels que le foie et, en partie, le péritoine qui devient plus rouge, sont très caractéristiques; on trouve plus rarement l'hyperhémie ou on oedème des poumons. Une demi-heure ou une heure après la mort, on peut encore voir souvent la contraction de l'oreillette droite du coeur. Dans beaucoup de cas, l'urine contient de l'albumine, mais on n'y a jamais trouvé d'hémoglobine. L'examen spectroscopique du sang, montrait de l'oxyhémoglobine ou bien de l'hémoglobine réduite, qui se transformait rapidement en oxyhémoglobine au contact de l'air. Nous n'avons pas pu trouver ni hémoglobine ni hématine sulfurées; en général, le spectre ne présentait pas de bandes anormales.

Pour illustrer ce que je viens de dire, je rapporterai seulement quelques unes de nombreuses expériences que j'ai faites sur ce sujet.

1-ère Expérience. Souris blanche, pesant 15 g.

Commencement de l'expérience à 2 h. 30 m. Après 2 minutes, l'animal commence à manifester des signes d'inquiétude, il cherche à s'échapper, la respiration devient plus pressée. — 2 h. 35 m. L'inquiétude augmente notablement. — 2 h. 37 m. L'animal tombe sur le côté, fait quelques mouvements convulsifs et se calme. La mort survient au bout de 7 minutes.

Autopsie. Le sang et le foie ont une coloration rouge-brique.

2-ème Expérience. Cobaye, pesant 530 g.

Commencement de l'expérience à 3 h. 15 m. Après 3 minutes, l'animal devient inquiet et cherche à s'échapper, sa respiration devient très pressée, il respire la bouche ouverte, la muqueuse de la bouche prend la couleur de la cyanose. Salivation, l'animal étouffe, évacue l'urine, ne peut se tenir sur ses pattes et, malgré tous ses efforts, tombe sur le côté: la respiration parait arrêtée. L'expérience est arrêtée à 3 h. 21 m.; on transporte l'animal au grand air et on essaye de le rappeler à la vie en le balançant. Tous les réflexes ont disparu; on ne perçoit ni les battements du cœur ni la respiration. A 3 h. 26 m., l'animal ouvre la bouche, baille et puis commence à respirer à de longs intervalles. A 3 h. 33 m., il reprend connaissance. L'air expiré a une forte odeur de mercaptan. A 5 heures, l'animal succombe.

Autopsie, faite de suite après la mort: Les poumons sont remplis de sang, mais sans œdèmes. Les reins et le foie sont gonflés. Les oreillettes ont encore de contractions. Le sang est d'un rouge très foncé à reflets jaunatres; le spectre en est normal.

3-ème Expérience. Lapin, pesant 2200 g.

A 6 h. 25 m., commencement de l'expérience; 2 minutes après: inquiétude, respiration précipitée, les oreilles deviennent pâles. 6 h. 28 m., les prunelles sont fortement dilatées. 6 h. 30 m., la respiration devient plus rare, salivation, évacuation de l'urine. L'animal tombe sur le côté, essaye de se relever; est pris de crampes. On arrête l'expérience et on porte l'animal au grand air. 6 h. 31 m., il est couché sur la terre, comme mort; les réflexes n'ont par encore disparu. 6 h. 36 m., l'animal commence à reprendre connaissance, il est pris de convulsions; la respiration se rétablit et devient pressée. 6 h. 40 m., les réflexes se rétablissent complètement, les membres postérieurs sont pris de crampes. L'animal meurt à 6 h. 45 m.; l'autopsie n'a été faite que le lendemain.

4-ème Expérience. Lapin, pesant 1470 g.

L'expérience commence à 9 h. 12 m. du matin. La quantité de mercaptan contenue dans l'atmosphère de la cloche atteint 20—30 %; dans les trois expériences précédentes elle variait entre 1 et 3 %. Après une demi-minute, l'animal est pris de convulsions. Retiré de la cloche, il continue à respirer rapidement; il y a, évidemment, des contractions convulsives du diaphragme. L'animal est pris d'opisthotonos, il s'élance, saute et, finalement, se couche et succombe à 9 h. 17 minutes.

L'autopsie a été faite de suite après la mort. Toutes les cavités dégagent une forte odeur de mercaptan, les poumons sont remplis de sang, mais il n'y a pas d'œdème. Le sang est rouge-jaune foncé, le spectre en est normal. Le sang artériel, versé dans une éprouvette, ne s'est pas coagulé après 12 heures et a repris sa couleur normale. L'oreillette droite se contracte encore pendant plusieurs minutes après l'ouverture de la cavité thoracique.

II.

Mais comme ces expériences ne peuvent servir à déterminer la dose mortelle de mercaptan, j'ai entrepis une nouvelle série d'expériences, où le mercaptan était introduit en solution, sous la peau, à l'état de sel de chaux. Pour obtenir ce sel, on faisait passer du méthylmercaptan par un lait de chaux fraîchement préparé et on filtrait rapidement la solution, afin de la débarrasser de l'excès de chaux. Pour préparer le sel de soude, je faisais aussi passer, jusqu'à saturation, un courant de mercaptan dans une solution à 10 % de soude caustique; mais cette dernière solution de mercaptan convient moins que la précédente, car les injections de cette solution provoquent une réaction locale chez les animaux. Aussi, me suis-je borné à une seule expérience avec cette combinaison du mercaptan.

On déterminait, comme suit, la quantité de mercaptan contenue dans la solution calcaire: 10 ccm de solution étaient décomposés avec de l'acide oxalique, et le méthylmercaptan qui se dégageait était recueilli dans une solution de cyanure de mercure. On faisait passer ensuite un courant d'air dans l'appareil, afin de chasser entièrement le mercaptan. Le résidu formé par le mercaptide de mercure était filtré, lavé, pressé entre des doubles de papier, séché au dessus de l'acide sulfurique et enfin pesé.

10 ccm de solution calcaire ont donné 1.0373 g de $Hg(SCH_3)_2$ ou 0.3387 g de CH_3HS; c. à d. que 1 ccm de solution contenait 0.03387 g de $CH_3.HS$.

Une dose de cinq centimètres cubes de cette solution (0.1693 g de $CH_3.HS$) était mortelle pour des lapins pesant de 1600 à 1800 g, soit qu'elle fût introduite, à l'aide d'une sonde, dans l'estomac ou dans le rectum, soit qu'elle fût injectée sous la peau. Une dose de quatre centimètres cubes provoquait déjà de graves symptômes d'intoxication; mais, néanmoins, les animaux se remettaient peu à peu et restaient vivants, pour la plupart. Une dose de un centimètre cube (0.033g
$CH_3.HS$) a provoqué de graves symptômes d'intoxication 1.
1250 g; mais l'animal a repris connaissance après une heur
expériences: je n'en rapporterai que trois, les autres ayant
tiques.

1-ère Expérience. Lapin, pesant 1250 g.

A 10 h. 5 m., on injecte 1 ccm de solution dans le rectum.
feste de l'inquiétude; l'air expiré a une forte odeur de r
comme s'il était narcotisé; il est couché sur le ventre,

la même position et se retourne tantôt sur un côté, tantôt sur l'autre. Les réflexes sont conservés; les prunelles sont très dilatées; les lèvres et la langue ont la teinte de la cyanose. Cet état dure près d'une heure.

2-ème Expérience. Lapin, pesant 2000 g.

A 10 h. 30 m. on introduit dans l'estomac 4 ccm de la solution (0.1354 g de $CH_3.HS$). Après 4 minutes, l'animal commence à devenir inquiet, la respiration atteint rapidement 127 à la minute; l'animal paraît narcotisé, il ne peut pas rester couché sur le ventre, il tombe sur le côté, les membres postérieurs sont paralysés. A 10 h. 37 m., salivation; l'animal crie quand on le touche; les prunelles sont très dilatées; les réflexes sont conservés. 10 h. 42 m., mis sur le ventre, il garde cette position; respiration, 130 à la minute, évacuation de l'urine. 10 h. 47 m., mis sur le coté, il se remet sur le ventre. 11 h. 20 m., l'animal commence à se remettre; l'air expiré a l'odeur du mercaptan. 12 h. 10 m., quoique faible, il commence à marcher. 12 h. 30 m., il se remet d'une manière sensible.

3-ème Expérience. Lapin, pesant 1700 g.

A 3 heures, on injecte 5 ccm de la solution sous la peau. Trois minutes après, il commence à devenir inquiet, les prunelles se dilatent, les oreilles deviennent pâles, cyanose de la muqueuse de la bouche. A 3 h. 4 m., l'animal paraît narcotisé. Une minute après, il se roule par terre, il est pris d'opisthotonos; la respiration, devenue faible, cesse tout-à-fait, sa bouche dégage l'odeur du mercaptan. A 3 h. 7 m., il fait deux, trois forts mouvements respiratoires et meurt trois minutes après. L'autopsie a été faite une heure après la mort. Toutes le parties du corps sentent fortement le mercaptan; l'oreillette droite se contracte encore; les poumons contiennent beaucoup de sang, on y voit un léger oedème; le foie et les reins sont remplis de sang. Le sang a le caractère du sang veineux. Dans les premiers moments de l'examen, le spectroscope décèle la présence de l'hémoglobine réduite, qui se transforme rapidement en oxyhémoglobine.

III.

Ces dernières expériences, ainsi que d'autres que je ne décrirai pas ici me mènent à conclure que la dose mortelle de méthylmercaptan, pour les lapins de taille moyenne, est de 0.1693 g ou de 130 milligrammes par kilogramme de poids de l'animal. En comparant ce résultat aux données du travail très soigneux de M. Lehmann[1]), ainsi qu'à celles de M. Ouchinsky[2]), il s'ensuit que le méthylmercaptan est moins toxique que l'hydrogène sulfuré. D'après les expériences récentes de ce dernier auteur, les lapins auxquels on injecte de 14 à 18 milligrammes d'hydrogène sulfuré en solution aqueuse, présentent, déjà après 10 minutes, des symptômes d'empoisonnement: l'animal commence à devenir inquiet, sa démarche est incertaine, il se couche sur le ventre; la respiration devient plus rare, mais le mouvements réflexes ne sont pas abolis. Il se rétablit après une demi-heure ou trois quarts d'heure, si on le laisse en repos. Des doses plus fortes, de 20 à 25 milligrammes, provoquent des convulsions de tous les muscles et de forts spasmes du diaphragme; l'animal est couché, immobile, sa respiration est rare; parfois il se rétablit, mais généralement, il succombe. Des doses encore plus fortes provoquent rapidement la mort. Dans mes expériences avec le méthylmercaptan, les symp-

[1]) Lehmann, Experimentelle Studien über den Einfluss technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Thl. V Schwefelwasserstoff. Archiv f. Hygiene **14**, 135.

[2]) Voir Zeitschrift für physiol. Chemie **17**, 222.

tômes graves de maladie n'apparaissaient, chez les lapins, qu'après des doses de 33 milligrammes, et les animaux se rétablissaient très vite; même des injections de 135 milligrammes n'entraînaient pas la mort qui ne survenait qu'après une dose de 169 milligrammes. A l'autopsie, que M. Ouchinsky faisait ordinairement de suite après la mort, il a toujours constaté de faibles contractions du coeur, mais il n'a jamais vu d'oedème dans les poumons; ce qui concorde parfaitement avec ce que j'ai observé avec le méthylmercaptan.

Si nous résumons toutes ces expériences, nous voyons que l'inspiration du méthylmercaptan produit d'abord une irritation des centres respiratoires. La respiration des animaux devient plus pressée et, conséquemment, ils sont empoisonnés d'autant plus vite par le gaz toxique qui s'accumule rapidement dans le sang; enfin, les centres des mouvement respiratoires se paralysent par suite d'une trop forte irritation. Pendant ce temps, les nerfs périphériques et les muscles sont peu affectés, ainsi qu'on le constate par le fait de la conservation des mouvements réflexes et par les contractions du coeur après la mort. On observe les mêmes phénomènes dans les empoisonnements per os, per rectum ou par la voie sous-cutanée: la même respiration pressée au commencement, suivie de la paralysie des mêmes centres entraînant la mort. Toujours, les nerfs périphériques et les muscles ne sont affectés que faiblement.

Afin de déterminer sous quelle forme l'organisme évacue le soufre du méthylmercaptan, nous avons recueilli l'urine de trois lapins empoisonnés avec ce gaz et nous y avons dosé 1. la quantité totale de l'acide sulfurique, 2. la quantité d'acide sulfurique combiné et 3. le soufre non oxydé. Nous avons trouvé que: 100 ccm d'urine contiennent 0.1854 g d'acide sulfurique total, 0.0210 g d'acide sulfurique combiné et 0.1384 g de soufre non oxydé. c. à d. que le soufre non oxydé représente 40.13 % de la quantité totale de ce corps contenue dans l'urine. D'après M. Salkowski[1]), le rapport normal serait de 16.3 %; il s'ensuit donc qu'une notable quantité du soufre du méthylmercaptan sort de l'organisme à l'état non oxydé.

L'urine sentait faiblement le méthylmercaptan, mais n'avait pas non plus l'odeur caractéristique des asperges. Les traces de méthylmercaptan, découvertes par M. Nencki dans l'urine ayant l'odeur des asperges, distillée avec de l'acide oxalique, devaient conséquemment provenir d'une autre combinaison sulfurée qui formerait une petite quantité de méthylmercaptan, après l'ébullition avec de l'acide oxalique.

Quant au sang, le spectroscope n'y a décelé aucune modification tant soit peu caractéristique; il en a été de même quand on faisait passer le méthylmercaptan par une solution diluée d'hémoglobine. Le sang avait seulement le caractère veineux et présentait, dans le spectroscope, les bandes d'absorption de l'hémoglobine réduite qui, au contact de l'air, revenait de nouveau à l'état d'oxyhémoglobine

[1]) Voir Die Lehre vom Harn, 1882.

Ueber die chemische Zusammensetzung des russischen Nadelholztheers und seine desinficirenden Eigenschaften

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **33**, 1. — Arch. des sciences biol. **2**, 359. — Gazeta Lekarska (1893) Nr. 46 bis 52. — Ausserdem kleinere Mittheilungen von Prof. Nencki in Врачъ (1893), **О примѣненіи сосноваго дегтя въ дезинфекціонной практикѣ**, Nr. 43 und **Замѣтка къ вопросу о дегтѣ**, Nr. 50.

Die nächste Veranlassung zu der nachfolgenden Untersuchung war die im vorigen Jahre zuerst am Kaspischen Meere aufgetretene Choleraepidemie, die sich dann bald über ganz Russland und hernach über Westeuropa ausbreitete. Ein Mangel an den üblichen Desinfectionsmitteln war zu befürchten und es wurde an unser Institut die Aufforderung gestellt, ein wo möglich Jedermann zugängliches und die Cholerabacterien sicher tödtendes Mittel zu finden. Nach manchen Ueberlegungen, wobei namentlich die Verschiedenartigkeit der einzelnen Provinzen des grossen Reiches zu berücksichtigen war — so ist für das Königreich Polen mit seinen mannigfaltigen Producten der chemischen Industrie und grossen Kalklagern die Sachlage eine ganz andere, als z. B. für den Norden oder Osten Russlands —, glaubten wir für die meisten Provinzen Russlands den Holztheer als das geeignetste und Jedermann bekannte Landesproduct empfehlen zu können. Zerstreute und gelegentliche Angaben über die antiseptische Wirkung des Holztheers, allerdings ohne nähere Bezeichnung der Herkunft desselben, waren schon in der Literatur vorhanden. So erwähnt R. Koch[1]), dass Holztheer selbst nach 20 tägiger Einwirkung Milzbrandsporen nicht tödtet. Woronzow, Kolesnikow und Winogradow[2]) geben an, dass in einzelnen Fällen Milzbrandsporen durch Holztheer abgetödtet werden, in anderen aber nicht. Die Herkunft und die Zusammensetzung des Theers ist auch hier nicht berücksichtigt. In seiner Arbeit über Kalkdesinfection hebt J. Jäger[3]) hervor, dass der Holztheer stärker antiseptisch sei, als der Steinkohlentheer.

Bei der Prüfung der antiseptischen Wirkung des Holztheers fanden wir bald, dass die desinficirende Kraft je nach der Provenienz und nach der Theersorte eine sehr wechselnde war. Nicht allein der Buchen-, Birken-, Espen- und Fichtentheer, sondern auch z. B. die aus verschiedenen Quellen bezogenen Fichtentheere waren in

---

[1]) Ueber Desinfection. Mittheilungen aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte **1**, 234 (1881).

[2]) Russkaja Medicina 1886, Nr. 3 u. 32. Ref. in Centralblatt f. Bacteriol. **1**, 641.

[3]) Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener chemischer Desinfectionsmittel bei kurzdauernder Einwirkung auf Infectionsstoffe. Bericht aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte **5**, 247 bis 293.

ihrer desinficirenden Wirkung sehr verschieden. Es war klar, dass diese so verschiedene Wirkung auf die Bacterien von der verschiedenen physikalischen und chemischen Beschaffenheit des Theeres, die schon bei oberflächlicher Betrachtung auffällig ist, abhängig sein musste. Die ausführlichsten Untersuchungen bezüglich der chemischen Zusammensetzung besitzen wir über den Buchenholztheer. Aus den Arbeiten von Reichenbach, Marasse, A. W. Hoffmann, F. Tiemann und Anderen ist es bekannt, dass darin von den als antiseptisch in Betracht kommenden Stoffen in geringen Mengen Phenol und Kresol, hauptsächlich Guajacol und Kreosol, sodann in den zwischen 240 und 290° siedenden Antheilen die Dimethyläther des Pyrogallols, des Methyl- und Propylpyrogallols enthalten sind. In einer vor Kurzem publicirten Untersuchung über die Phenole des Birkenholztheers giebt Max Pfrenger[1]) als Hauptbestandtheil des Birkenholzkreosots das Guajacol und Kreosol an, dann folgt quantitativ absteigend Kresol und Xylenol, während Phenol nur vermuthet werden kann. Nur über die Zusammensetzung des Nadelholztheers konnten wir in der neueren Literatur keine Angaben finden. In Russland kommen im Handel hauptsächlich zwei Holztheerarten vor. Es sind dies der Birkentheer, bekannt durch seine Verwendung bei der Juchtenlederfabrikation, und zweitens der Nadelholztheer, der aus verschiedenen Pinusarten, vorzüglich aber aus der Kiefer (Pinus silvestris) bereitet wird. Daher auch der russische Name Sosnowyj deget (Sosna = die Kiefer).

In Centralrussland wird in geringer Menge auch der Espentheer (Osinowyj deget) von Populus tremula fabricirt. Durch die Freundlichkeit des Herrn Provisors Bormann erhielten wir aus Nischni-Nowgorod ein Muster dieses Theers. Die übersandte Probe von eigenthümlichem specifischem Geruch war stark sauer. Der Säuregrad auf Essigsäure bezogen war = 10.3 Proc. Ueber seine antiseptische Wirkung wird weiter unten berichtet; seine chemische Zusammensetzung werden wir später beschreiben.

Da der Nadelholztheer stärkere desinficirende Eigenschaften als der Birkentheer hat, überdies auch bedeutend billiger und für die Länge für den Geruchssinn nicht so lästig als der Birkentheer ist, so verdiente er für die Desinfectionspraxis unbedingt den Vorzug. Unsere Aufgabe war daher, die chemische Zusammensetzung der verschiedenen in Russland vorkommenden Sorten des Fichtentheers zu untersuchen, ihre desinficirende Kraft zu ermitteln und schliesslich einfache Methoden zu finden, um rasch den echten Fichtentheer von anderen Theerarten, sowie die guten von weniger brauchbaren oder gefälschten Sorten zu unterscheiden. Wir bezogen anfangs von einem Petersburger Theerhändler Chrienow, später durch den Grosshändler Herrn Hans Olsen aus verschiedenen Gegenden Russlands feinere und billigere Sorten garantirt echten Fichtentheers. Von den eingegangenen Mustern haben wir sechs Sorten genauer untersucht und geben hier eine tabellarische Uebersicht über ihre Eigenschaften und Zusammensetzung (siehe umstehende Tabelle).

Wie man sieht, variirt der Fichtentheer in Bezug auf den Gehalt an Phen und Säuren sehr bedeutend. Am stärksten desinficirend erwiesen sich die

[1]) Archiv der Pharmacie **228**, 701 (1890).

Vergleichende Tabelle über die Zusammensetzung sechs verschiedener Fichtentheersorten.

Benennung der Proben des Fichtentheers	Spec. Gew.	Löslichkeit in Alkohol absolut	Löslichkeit in Aether	Löslichkeit in Aceton	Löslichkeit in Chloroform	Löslichkeit in Benzol	Löslichkeit in Petroläther	Menge des Destillats in Proc.	Menge d. Kohlenwasserstoffe in Proc.	Gesammtmenge d. Phenole in Proc.	Menge der Phenole in Proc. u. nach dem Siedepunkte: bis 200^0	200 bis 215^0	215 bis 225^0	225 bis 240^0	240 bis 260^0	260 bis 280^0	280 bis 300^0	Säuremenge in Proc. auf Essigsäure bezogen
1. Olsen A. . . .	1.0848	leicht löslich	l. löslich	leicht löslich	leicht löslich	löslich	wenig löslich	62.1	20.7	15.6	0.266	1.200	2.666	3.866	3.666	2.066	1.866	4.99
2. „ B. . . .	1.0509	leicht löslich	l. löslich	leicht löslich	leicht löslich	löslich	wenig löslich	56.8	22.8	14.6	0.800	0.266	1.800	3.066	3.333	3.000	2.400	3.67
3. „ C. . . .	1.1540	leicht löslich	l. löslich	leicht löslich	leicht löslich	löslich	wenig löslich	61.3	26.3	12.4	0.933	0.026	2.000	3.133	3.066	2.066	0.933	3.08
4. v. Chrienow .	1.0570	leicht löslich	löslich	leicht löslich	leicht löslich	löslich	wenig löslich	39.2	24.5	8.8	0.350	1.180	1.907	2.214	1.650	1.086	0.464	2.32
5. aus Archangelsk	1.0788	leicht löslich	löslich	leicht löslich	leicht löslich	löslich	wenig löslich	66.8	25.8	15.2	1.320	1.540	2.310	1.540	1.440	2.640	4.370	3.23
6. aus Finnland .	1.2488	leicht löslich	unlöslich	unlöslich	unlöslich	unlöslich	unlöslich	35.2	1.02	2.33	—	205—215° 0.600	0.700	0.540	0.216	260—270° 0.108	—	15.18

1 und 4 angeführten Marken. Ganz schwach desinficirend waren die Marken 3 und 5. Es waren dies dicke, stark mit Krystallen durchsetzte, halbfeste Massen. Die Marke Nr. 6, obgleich wenig Phenol enthaltend, war ziemlich antiseptisch, offenbar wegen des hohen Gehalts an Essigsäure. Durch Bestimmung des Phenol- und Säuregehaltes in Verbindung mit einigen äusserlich schon leicht kenntlichen Eigenschaften kann man übrigens bald ein annähernd richtiges Urtheil über die desinficirende Kraft einer Theersorte haben; allerdings kann das Endurtheil erst nach bacteriologischer Prüfung gefällt werden.

Ein für Desinfectionszwecke geeigneter Nadelholztheer ist syrupös, dickflüssig, jedoch nicht zähe oder halbfest, von saurer Reaction, in dünner Schicht von rothbrauner Farbe. Der Säuregrad beträgt zwischen 2 bis 5 Proc., das specifische Gewicht 1.057 bis 1.085. Zäher, dickflüssiger Theer, welcher suspendirte Krystalle (Pimarsäure) enthält, erwies sich für die Desinfectionszwecke als ungeeignet. Echter, guter Fichtentheer, mit Wasser vermengt, sinkt darin unter, und höchstens eine dünne Schicht bleibt auf dem Wasser schwimmen; ähnlich verhält sich der Espentheer. Dadurch, sowie durch den Geruch unterscheidet sich wesentlich der Fichten- von dem Birkentheer. Der letztere mit Wasser vermischt sinkt nicht unter, sondern schwimmt auf dem Wasser. Beimengungen von Kohlenwasserstoffen oder Naphta zum Fichtentheer können auf diese Weise leicht erkannt werden. Ein damit

verunreinigter Fichtentheer sinkt nicht ganz im Wasser unter, sondern ein Theil schwimmt an der Oberfläche.

Der Phenolgehalt im Holztheer wird am besten so bestimmt, dass der Theer destillirt wird, bis die Temperatur des Destillates etwa 300° beträgt. Das Destillat wird zunächst zur Entfernung der Säuren mit Soda ausgeschüttelt. Der in Soda unlösliche Theil des Destillates wird mit 20 proc. Kali- oder Natronlauge geschüttelt, die in Kali gelösten Phenole von den Kohlenwasserstoffen durch Scheidetrichter getrennt und als „Rohphenol" gewogen. Die von Koppeschaar zur Bestimmung der Phenole im Steinkohlentheer empfohlene Titration mit Brom ist hier nicht geeignet, da der Fichtentheer keine Phenole im strengeren Sinne des Wortes, sondern nur Guajacol und dessen Homologe enthält.

I. Die Phenole des Fichtentheers.

Nach einigen Vorversuchen haben wir etwa 40 kg von dem Kaufmann Chrienow bezogenen Fichtentheers, welcher sich als stark desinficirend erwies, auf folgende Weise verarbeitet.

Der Theer wurde in Portionen von 1 bis 2 kg aus Glasretorten destillirt. Anfangs ging Wasser, alsdann ein Gemisch von Säuren, Phenolen und indifferenten Oelen, die sich in Kali nicht lösten, über. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis der allmählich steigende Quecksilberfaden die Temperatur des Destillates von 290 bis 300° zeigte. Wir beobachteten constant, dass, sobald die Temperatur 250° und darüber erreichte, allmählich von Neuem Wasser überdestillirte, offenbar als Spaltungsproduct des Retorteninhalts in Folge der höheren Hitze. Die Menge des Destillates, wie aus der Tabelle ersichtlich, schwankte je nach der Theersorte zwischen 35 bis 66 Proc. Das Destillat wurde zur Entfernung der Säuren mit Sodalösung geschüttelt, diese wurde getrennt, eingedampft und für sich später verarbeitet. Das entsäuerte Destillat wurde nun mit dem gleichen Volumen 20 proc. Kalilauge versetzt, stark geschüttelt und der Ruhe überlassen. Es schieden sich dabei zwei Schichten ab: die obere war klar und gelblich, enthielt Kohlenwasserstoffe und indifferente Oele, die untere war rothbraun und enthielt die Phenole gelöst. Die Phenolate wurden getrennt und mit einem Ueberschuss von verdünnter Salzsäure zersetzt — die Phenole setzten sich als braune Schicht oben ab. Sie wurden getrennt und zur Entfernung der anhaftenden Salzsäure mit Sodalösung und hernach mit Wasser gewaschen und dann überdestillirt. Beim Destilliren hinterblieb nur ein geringer pechartiger Rückstand. Den erhaltenen Phenolen war nur wenig in Kalilauge Unlösliches beigemengt. Zur Entfernung desselben wurden sie abermals in Kalilauge gelöst, mit Salzsäure gefällt, gewaschen und zum Schluss über entwässertem Kupfersulfat getrocknet und fractionirt. Ein häufig wiederholtes F tioniren hatte keinen Zweck, da das Thermometer nie bei einer besti Temperatur stehen blieb, sondern allmählich in die Höhe stieg. Bei zw schiedenen Proben von Chrienow'schem Theer war die Menge der Fra folgende:

	I	II	
von 165 bis 200°	0.554 Proc.	0.350 Proc.	vom Gewicht des angewandten Theers.
„ 200 „ 215°	1.091 „	1.180 „	
„ 215 „ 225°	1.798 „	1.907 „	
„ 225 „ 240°	2.083 „	2.214 „	
„ 240 „ 260°	1.234 „	1.650 „	
„ 260 „ 270°	0.426 „	—	
„ 270 „ 280°[1])	—	1.086 „	
„ 280 „ 290°	—	0.464 „	
	7.15 Proc.	8.85 Proc.	

Die niedrigen Fraktionen sind fast farblos und dünnflüssig, die höheren gelblich und dickflüssig, die höchsten hellbraun und fast syrupös. Beim Stehen werden sie rasch dunkel.

Die Fraction 165 bis 200° gab in alkoholischer Lösung mit sehr wenig Eisenchlorid eine blaue Färbung, mit einem Stich ins Grüne, nach Zusatz von einigen Tropfen Sodalösung verschwindet die Färbung, und die Flüssigkeit wird missfarbig. Die Fractionen von 200 bis 260° gaben mit wenig Eisenchlorid eine lebhaft rothviolette Färbung, die sich Tage lang unverändert hielt, mit Sodalösung wurde sie schmutzig violett. Die Fractionen von 260 bis 290° gaben mit wenig Eisenchlorid eine grünliche Färbung, die durch Sodazusatz violett wird.

Nachdem auf diese Weise etwa 2 kg der Phenole gesammelt worden, versuchten wir ihre Trennung auf folgende Weise: Die über wasserfreiem Kupfersulfat getrockneten Phenole wurden von Neuem der Destillation unterworfen und die erste bis zu 200° übergehende Fraction, in der wir die Anwesenheit von Phenol oder Kresolen erwarten durften, für sich aufgefangen. Ebenso wurde (für sich) die Fraction 200 bis 222°, in welcher wir, und, wie die Untersuchung zeigte, mit Recht, die Gegenwart von Guajacol und Kreosol erwarteten, aufgefangen. Eine dritte Fraction bildeten die zwischen 220 bis 280° siedenden Phenole.

Fraction bis zu 200°.

Diese Fraction war nicht allein bei den Chrienow'schen, sondern bei allen von uns untersuchten Nadelholztheeren relativ die geringste. Wiederholtes Fractioniren ergab keinen constanten Siedepunkt, stets erhielten wir Antheile, welche erst über 200° übergingen. Wir haben daher den niedrigst, zwischen 170 bis 180° siedenden Antheil analysirt und dabei folgende Zahlen erhalten:

1. 0.2620 g gaben 0.7520 g CO_2 = 78.29 Proc. C
und 0.2238 „ H_2O = 9.49 „ H
2. 0.2745 g gaben 0.7915 „ CO_2 = 78.63 „ C
und 0.2379 „ H_2O = 9.63 „ H
Kresol = C_7H_8O verlangt 77.77 Proc. C; 7.41 Proc. H
Xylenol = $C_8H_{10}O$ „ 78.69 „ C; 8.2 „ H

Wie man sieht, entspricht der gefundene Kohlenstoffgehalt dem Procentgehalt eines Xylenols, dagegen wurde 1 Proc. Wasserstoff mehr, als die Formel $C_8H_{10}O$

[1]) Bei der Probe I wurde der Theer nur so lange destillirt, bis die Temperatur der Dämpfe 270° erreichte.

verlangt, gefunden. Das analysirte Phenol wurde durch Eisenchlorid grün gefärbt; Sodazusatz machte die Färbung grau, missfarbig. Da, wie die Analyse zeigte, das Phenol keineswegs rein war, so wurde die ganze unterhalb 200° siedende Fraction in Aether gelöst und mit alkoholischem Kali versetzt. Die Flüssigkeit erstarrte zu einem Krystallbrei von weissen Nadeln. Die Kaliverbindung wurde zuerst mit Alkoholäther, später nur mit Aether nachgewaschen, zwischen Fliesspapier sorgfältig abgepresst und aus dem in wenig Wasser gelösten Kalisalz das Phenol durch Salzsäure abgeschieden. Der Rectification unterworfen ging jetzt der grösste Theil des Phenols bei 200° über und erwies sich seinen Reactionen und Analysen, sowie seiner Pikrinsäureverbindung nach als reines Guajacol. 0.2415 g des pikrinsauren Guajacols, das über SO_4H_2 getrocknet wurde, gaben 0.3934 g CO_2 und 0.0757 g H_2O = 44.43 Proc. C und 3.48 Proc. H. 0.2310 g der Substanz gaben 22.4 ccm N-Gas bei 18° und 760 mm Bst. = 12.15 Proc. N.

Die Formel $C_6H_4(OH)OCH_3 . C_6H_2(NO_2)_3OH$ verlangt: C 44.18 Proc., H 3.12 Proc., N 11.90 Proc.

Im Laufe dieser Untersuchung hatten wir stets zu thun mit Gemischen von Phenolen oder eigentlich Guajacolen, die durch noch so oft wiederholte fractionirte Destillation von einander nicht zu trennen waren. Wir sahen uns genöthigt, nach neuen Trennungsmethoden zu suchen, um durch Ueberführung der einzelnen Guajacole in feste, krystallinische Verbindungen sie so von einander zu trennen. Die Ueberführung der Guajacole in krystallinische Benzoylverbindung durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge gelang uns nur mit Guajacol par excellence.

Vor etwa 15 Jahren machte in unserem Laboratorium in Bern Prof. P. Giacosa[1]) die Beobachtung, dass Phenole mit Chloressigsäure und Natronlauge erwärmt sehr beständige krystallinische Verbindungen, die Phenolglycolsäuren, z. B. aus Phenol und Chloressigsäure die Phenolglycolsäure ($C_6H_5O—CH_2CO_2H$) geben. Die gleiche Reaction bei den Guajacolen angewendet, lieferte aber keine krystallinischen Verbindungen. Dagegen hat uns Pikrinsäure zu dem gewünschten Ziele geführt. Beim Vermischen von Guajacol in verdünnter, wässeriger, alkoholischer Lösung mit heisser, wässeriger Pikrinsäurelösung erstarrt die Flüssigkeit sofort zu einem Krystallbrei von orangerothen Nadeln, welche eine molekulare Verbindung von Pikrinsäure mit Guajacol sind.

Aehnlich verhält sich das Kreosol und dessen Homologe, sowie eine ganze Reihe anderer Phenole. Durch Destillation der Pikrate mit Soda im Ueberschusse können aus den Pikraten Guajacole und andere flüchtige Phenole rein gewonnen werden. Bei genauerer Durchsicht hierauf bezüglicher Literatur fanden wir, dass ähnliche Verbindungen der Pikrinsäure mit Naphtolen schon vor 10 Jahren von C. Marchetti[2]) erhalten wurden. Herr Dr. Goedike[3]) hat in unserem Laboratorium die Verbindungen von Phenolen mit Pikrinsäure eingehend untersucht und wird ausführlich darüber berichten.

---

[1]) Journ. prakt. Chem. **19**, 396. — Nencki's Opera omnia **1**, 450.

[2]) Ber. **16**, 796.

[3]) Siehe unten.

Die Fraction von 200 bis 222°.

Sie bestand aus Guajacol und Kreosol, wie aus Folgendem hervorgeht. Durch wiederholte Rectification wurden zunächst die von 200 bis 205° siedenden Antheile von den höher siedenden getrennt, hierauf in gleichem Volumen Aether gelöst und mit gesättigter alkoholischer Kalilauge versetzt. Es entstand ein Krystallbrei, der abfiltrirt und mit Aether sorgfältig gewaschen, abgepresst und getrocknet wurde. Alsdann wurde die glänzende, weisse Krystallmasse in Wasser gelöst und mit Salzsäure zersetzt. Es schied sich ein Phenol ab, welches getrocknet und rectificirt um 200° siedet. Das Phenol gab in alkalischer Lösung mit Benzoylchlorid Krystalle, die in Wasser unlöslich und nach wiederholtem Umkrystallisiren aus Alkohol homogen waren. Sie schmolzen bei 59°, und ihre Elementaranalyse ergab folgende Zahlen: 0.2626 g gaben 0.7086 g CO_2 = 73.60 Proc. C und 0.1278 g H_2O = 5.41 Proc. H.

Benzoylguajacol, $C_6H_4<^{OCH_3}_{O-CO.C_6H_5}$, verlangt C 73.68 Proc., H 5.26 Proc., O 21.06 Proc.

Somit ist die Anwesenheit des Guajacols im Fichtentheer festgestellt.

Die zwischen 216 bis 222° siedende Fraction besteht fast nur aus Kreosol oder einem Gemisch von Isomeren. Durch Eisenchlorid werden sie violett gefärbt, welche Färbung durch Zusatz von Soda braunviolett wird. Die in einem Intervall von 2 zu 2° siedenden Fractionen ergaben mit der Formel $C_8H_{10}O_2$ übereinstimmende Zahlen. So erhielten wir bei der Verbrennung der zwischen 216 bis 218° siedenden Fractionen aus 0.3158 g Subst. 0.8069 g CO_2 = 69.68 Proc. C und 0.2178 g H_2O = 7.66 Proc. H. Aus 0.3258 g der Fraction von 222 bis 224° wurden 0.8298 g CO_2 = 69.46 Proc. C und 0.2276 g H_2O oder 7.76 Proc. H erhalten. Kreosol, $C_6H_3(CH_3)<^{OCH_3}_{OH}$, verlangt C 69.56 Proc., H 7.24 Proc. und O = 23.20 Proc. Aus der zwischen 218 bis 220° siedenden Fraction wurde von Herrn Goedike das Pikrat dargestellt. Sein Schmelzpunkt liegt bei 96°. Bei der Elementaranalyse wurden folgende Zahlen gefunden: 0.2411 g Subst. gaben bei 20° und 771 mm Bst. 23.7 ccm N = 11.41 Proc. N.; 0.3430 g gaben 0.5765 g CO_2 = 45.85 Proc. C und 0.1152 g H_2O = 3.73 Proc. H.

Die Formel $C_6H_3(CH_3)<^{OCH_3}_{OH} + C_6H_2(NO_2)_3OH$ verlangt N 11.44 Proc., C 45.78 Proc., H 3.54 Proc., O 39.24 Proc.

Die Phenole der höher siedenden Fractionen.

Wir versuchten anfangs etwa aus einem halben Kilo der über 222° siedenden Phenole sie durch fractionirte Destillation von einander zu trennen. Die Fractionen, welche einigermaassen in einem engeren Intervall siedeten, wurden von Neuem rectificirt und zur vorläufigen Orientirung analysirt. So wurden zwei Fractionen — eine zwischen 256 bis 258°, die andere zwischen 270 bis 272° siedend — analysirt. Beide Fractionen wurden durch Eisenchlorid violettroth gefärbt und gaben mit Kali

geschmolzen unter den definirbaren Producten Brenzcatechin und ein in Alkohol, Aether und Wasser leicht lösliches, syrupöses Phenol, das Fehling'sche Lösung reducirte und mit Eisenchlorid eine grüne Färbung annahm, die nach Zusatz von Soda ins Violette überging, also allem Anscheine nach ein Homobrenzcatechin war.

Die Analyse der zwischen 256 bis 258° siedenden Fraction ergab folgende Zahlen:

0.3240 g gaben	0.8522 g CO_2 =	71.73 Proc.	C
	0.2284 „ H_2O =	7.83 „	H
0.3122 g gaben	0.8176 „ CO_2 =	71.65 „	C
	0.2202 „ H_2O =	7.86 „	H

Die Formel $C_9H_{12}O_2$ verlangt C 71.05 Proc., H 7.89 Proc., O 21.06 Proc.

Die Analyse der zwischen 270 bis 272° siedenden Fraction ergab folgende Zahlen: 0.3632 g gaben 0.9654 g CO_2 = 72.49 Proc. C und 0.2607 g H_2O = 7.95 Proc. H. 0.2794 g Subst. gaben 0.7466 g CO_2 = 72.88 Proc. C und 0.2022 g H_2O = 8.04 Proc. H.

Ein Propylguajacol von der Formel $C_{10}H_{14}O_2$ oder $C_6H_3(C_3H_7)<^{OCH_3}_{OH}$ verlangt C 72.23 Proc., H 8.43 Proc. und O 19.34 Proc.

Die Zusammensetzung der analysirten Präparate entsprach nur annähernd der Formel $C_9H_{12}O_2$, resp. $C_{10}H_{14}O_2$.

Leider wurden die beiden Homologen des Guajacols, selbst mehrere Tage der strengen Winterkälte 20 bis 28° unter Null ausgesetzt, nicht krystallinisch. Auch die Pikrate ergaben keine übereinstimmenden Zahlen. Wir haben daher den ganzen Rest der von 240 bis 280° übergegangenen Fraction in Aether gelöst und mit alkoholischem Kali versetzt. Der kleinere Theil des Guajacols bildete ein krystallinisches Salz, das in Aether unlöslich war; der grössere Theil wurde nicht krystallinisch und war in Aether löslich. Es waren also verschiedene Guajacole vorhanden.

Das krystallinische Kalisalz wurde abfiltrirt, mit Aether sorgfältig gewaschen und gut abgepresst. Von dem in Aether löslichen Kalisalze wurde der Aether und Alkohol auf dem Wasserbade verdampft, das Salz in Wasser gelöst und die Phenole durch Salzsäure in Freiheit gesetzt. Die Phenole wurden mit Soda gewaschen und überdestillirt. Alsdann wurden sie nochmals mit alkoholischem Kali behandelt. Hierbei wurden nur wenig Krystalle erhalten und schien damit die Trennung eine vollständige zu sein.

Die beide Male erhaltenen Krystalle des Kalisalzes wurden in Wasser gelöst, mit Salzsäure zersetzt, mit Soda und Wasser sorgfältig ausgewaschen, über entwässertem Kupfersulfat getrocknet und destillirt. Das Product ging fast farblos zwischen 235 bis 245° über; nochmals rectificirt ging der grösste Theil zwischen 235 bis 239° über, besass einen angenehmen, an Guajacol erinnernden Geruch, färbte sich mit wenig Eisenchlorid blauviolett, welche Farbe durch Sodazusatz tief violett wurde. Die Elementaranalyse dieser Fraction ergab folgende Zahlen: 0.2367 g gaben 0.1690 g H_2O = 7.93 Proc. H und 0.5838 g CO_2 = 67.22 Proc. C. Die Zahlen entsprechen der Formel $C_{11}H_{16}O_3$, welche verlangt C 67.34 Proc., H 8.16 Proc., O 24.60 Proc.

Die Formel $C_{11}H_{16}O_3$ entspricht der Zusammensetzung des Dimethylesters des Propylpyrogallols, $C_3H_7 . C_6H_2(OH)(OCH_3)_2$, das zuerst von A. W. Hofmann[1]) in dem hochsiedenden Theile des Kreosots des Buchenholztheers gefunden wurde. Dieser Ester siedet nach Hofmann bei 285° und geht durch Oxydation in den Oxychinondimethyläther, $C_6H_2(OCH_3)_2O_2$, über.

Hofmann beschreibt ferner krystallinische Derivate dieses Dimethylesters mit Brom, mit Acetyl und Benzoyl. Mit Salzsäure im Rohr auf 130° erhitzt, zerfällt dieser Ester in Chlormethyl und das bei 79 bis 80° schmelzende Propylpyrogallol.

Wir haben aus unserem Präparate keines von diesen Derivaten erhalten können. Mit 25 proc. Salzsäure fünf Stunden lang auf 130 bis 135° erhitzt, spaltete unsere Verbindung Chlormethyl ab. Beim Oeffnen des Rohres entwichen reichliche Mengen dieses Gases. Der ölige Röhreninhalt hatte einen angenehmen vanilleartigen Geruch, wurde aber auch nach längerem Stehen nicht krystallinisch. Das ölige, in Wasser wenig lösliche Phenol färbte sich mit Eisenchlorid schmutzig grün, welche Farbe nach Sodazusatz violettroth wurde, bekanntlich eine für Brenzcatechin und dessen Derivate charakteristische Reaction. Mit Kalihydrat geschmolzen wurde unser Präparat nur schwierig zersetzt, und als einziges fassbares Product haben wir ein wenig Brenzcatechin erhalten. Sicher ist die von uns erhaltene Verbindung kein Dimethyläther des Propylpyrogallols, sondern ein Brenzcatechinderivat. Wir haben anfangs gedacht, dass unsere Substanz kein reines chemisches Individuum sei. Für die Richtigkeit der obigen Formel sprechen aber die von uns erhaltenen Pikrinsäureverbindungen, wovon wir sogar zwei erhalten haben. In einem Versuche wurde das Phenol und Pikrinsäure, beides in Alkohol gelöst, in molekularem Verhältniss vermischt und auf Eis der Krystallisation überlassen. Anfangs krystallisirte etwas Pikrinsäure aus. Sie wurde abfiltrirt, worauf beim weiteren Stehen in offener Schale das Pikrat in schönen rothen Nadeln auskrystallisirte. Die Krystalle wurden auf ein Filter gebracht und mit Aether gewaschen, wobei ein Theil der Krystalle sich löste. Die zwischen Fliesspapier abgepresste Verbindung wurde über SO_4H_2 getrocknet. Sie schmolz im Capillarröhrchen bei 90°, und ihre Analyse ergab folgende Zahlen:

0.2485 g der Substanz gaben 28.8 ccm N-Gas bei 17° und 760 mm Bst. = 12.77 Proc. N. 0.3777 g gaben 0.5794 g CO_2 = 41.84 Proc. C und 0.1171 g H_2O = 3.44 Proc. H.

Ein Pikrat von der Zusammensetzung:

$C_{11}H_{16}O_3 + 2[C_6H_2(NO_2)_3OH]$ verlangt N 12.84 Proc., C 42.20 Proc., H 3.36 Proc., O 41.60 Proc.

Wir wollten eine grössere Menge dieses Pikrates darstellen und haben zu dem Zwecke Pikrinsäure und Phenol, beides in 50 Proc. Alkohol gelöst, mit einander vermischt. Diesmal wurde das Phenol im Ueberschusse angewendet. Wir liessen aus der klaren Lösung auf dem Wasserbade bei 30 bis 40° den Alkohol langsam verdunsten, und es schieden sich jetzt gut ausgebildete rothe Nadeln ab, die zwischen Fliesspapier abgepresst und an der Luft getrocknet bei 99° schmolzen und bei der Analyse folgende Zahlen ergaben:

---

[1]) Berichte **8**, 66 und **11**, 329.

0.2462 g gaben bei 14° und 755 mm Bst. = 21.6 ccm N = 10.23 Proc. N.
0.2989 g gaben 0.5272 g CO_2 = 48.14 Proc. C und 0.1178 g H_2O = 4.38 Proc. H.
Die Formel $C_{11}H_{16}O_3 + C_6H_2(NO_2)_3OH$ verlangt C 48.00 Proc., H 4.47 Proc., N 9.88 Proc., O 37.65 Proc.

Danach würde das Phenol der Fraction 235 bis 239°, je nach der Menge mit einem oder zwei Molekülen Pikrinsäure sich verbinden können.

Mit Rücksicht darauf, dass es ein Brenzcatechinderivat ist, müsste das dritte Sauerstoffatom in der Seitenkette enthalten sein. Möglicher Weise entspricht seiner Zusammensetzung folgende rationelle Formel: $C_6H_2 . CH_3 . CH_2CH(OH)CH_3 . OCH_3 . OH$. Leider hatten wir nicht genug Material, um uns hierüber Aufklärung verschaffen zu können.

Die Phenole, welche mit Kali kein krystallinisches Salz gaben, wurden von Aether und Alkohol befreit, in Wasser gelöst und mit Salzsäure zersetzt. Die abgeschiedenen Phenole wurden mit Soda gewaschen, getrocknet, destillirt und von Neuem in Intervallen von 2 zu 2° rectificirt. Ein einigermaassen constanter Siedepunkt wurde nicht beobachtet. Die Fractionen siedeten zwischen 230 bis 280°. Mit den höher siedenden Fractionen, als Zeichen der Zersetzung, ging auch das Wasser über. Der Kohlenstoffgehalt stieg mit dem Siedepunkte und schwankte bei den einzelnen Fractionen zwischen 71 bis 75 Proc. Alle Fractionen gaben mit Eisenchlorid eine rothviolette Färbung, die durch Soda intensiv violett wurde. Weder mit Benzoylchlorid, noch mit Pikrinsäure konnten wir aus den höher siedenden Fractionen krystallinische Verbindungen erhalten.

Aus mancherlei Gründen haben wir die Untersuchung der Phenole mit einer grösseren Partie des Fichtenholztheers wiederholt. Durch die Freundlichkeit des Herrn H. Olsen erhielten wir „aus Finnland drei Sorten — guten und echten — aus Thermokessel destillirten Theers". Nachdem durch bacteriologische Untersuchung die mit der Marke A und B bezeichneten Sorten sich als gut desinficirend gezeigt hatten, wurden 110 kg davon aus einem Kupferkessel in Portionen von 10 bis 12 Liter destillirt und daraus nach dem oben beschriebenen Verfahren die Guajacole isolirt. Die beiden Theerarten waren von braungelber Farbe, die Marke A war vollkommen klar, die Marke B enthielt spärliche Krystalle von Pimarsäure — sie war auch weniger antiseptisch. — Die Zusammensetzung der beiden Marken Olsen A und B ist in der Tabelle (S. 400) angeführt. Die Ausbeute an Phenolen, d. h. an in Kali löslichen, zwischen 200 bis 300° siedenden Producten betrug 14.5 kg, also 13 Proc. des angewandten Theers. Trotz der grossen in Arbeit genommenen Menge haben wir keine unter 200° siedenden Phenole erhalten. Was bei der ersten Destillation unter 200° überging, erwies sich bei weiterer Bearbeitung als Guajacol. Ein weiterer Unterschied zwischen diesem und Chrienow'schem Theer bestand darin, dass es uns nicht gelang, das Phenol von der Formel $C_{11}H_{16}O_3$ vom Siedepunkt 236 bis 239° hier aufzufinden.

Bei der Rectification wurden die Guajacole in folgenden Fractionen aufgefangen:

1. von 200 bis 215°.
2. „ 215 „ 225°.
3. von 225 bis 260°.
4. „ 260 „ 300°.

Die Fraction von 200 bis 215° bestand wesentlich aus Guajacol, die von 215 bis 225° aus Kreosol. Durch Ueberführung in Kali- resp. Barytverbindung haben wir daraus reines Guajacol resp. Kreosol dargestellt und durch Elementaranalysen die Körper identificirt.

Die Fractionen 225 bis 240° und von 240 bis 260° erstarrten, in Aether gelöst und mit gleichem Volumen alkoholischer Kalilauge versetzt, vollkommen zu einer krystallinischen Masse.

Aus den Fractionen von 260 bis 270° wurden nur geringe Quantitäten krystallinischer Kalisalze erhalten, und Fractionen über 270° gaben keine festen Kalisalze mehr.

Die aus den Kalisalzen erhaltenen und zwischen 225 bis 260° siedenden Phenole wurden rectificirt; die zwischen 225 bis 240° siedende Fraction von Neuem in das Kalisalz verwandelt und daraus durch öfters wiederholte Destillation schliesslich ein constant zwischen 234 bis 236° siedendes Product erhalten.

Dieses Guajacol hatte folgende Eigenschaften: wasserhelle, ölige Flüssigkeit. Specifisches Gewicht 1.0670. Durch wenig Eisenchlorid wird es blaugrün, durch etwas mehr rein grün gefärbt; durch Sodazusatz wird die grüne Färbung schön violett.

Seine Elementaranalysen ergaben folgende Zahlen:

0.2484 g Substanz gaben 0.6510 g CO_2 = 71.47 Proc. C und 0.1747 g H_2O = 7.86 Proc. H.

0.2378 g Substanz gaben 0.6232 g CO_2 = 71.47 Proc. C und 0.1684 g H_2O = 7.87 Proc. H.

Diese Zahlen entsprechen am besten der Formel $C_9H_{12}O_2$, welche verlangt C 71.05 Proc., H 7.89 Proc. und O 21.06 Proc.

Mit Pikrinsäure giebt dieses Guajacol eine in orangerothen Nadeln krystallisirende Verbindung, die bei 90° schmolz und bei der Analyse folgende Zahlen ergab: 0.2300 g Substanz gaben bei 19° und 739 mm Bst. 23.8 ccm N-Gas = 11.22 Proc. N. 0.2743 g Substanz gaben 0.4780 g CO_2 = 47.53 Proc. C und 0.1020 g H_2O = 4.13 Proc. H.

Ein Pikrat von der Formel $C_9H_{12}O_2 + C_6H_2(NO_2)_3OH$ verlangt C 47.26 Proc., H 3.93 Proc., N 11.02 Proc., O 37.79 Proc.

Weder mit Benzoylchlorid noch durch Kochen mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat gelang es uns, eine krystallinische Verbindung zu erhalten. Aus den Analysen des freien Guajacols, sowie des Pikrates geht unzweifelhaft hervor, dass es nach der Formel $C_9H_{12}O_2$ zusammengesetzt ist. Unsere Erwartung, dass es das Guajacol von der Zusammensetzung $C_{11}H_{16}O_3$ sein würde, das wir dem Siedepunkte nach erwarteten, hat sich nicht bestätigt, und selbst wenn es in den höher siedenden Fractionen sein sollte, war mit Rücksicht darauf, dass die Hauptmenge aus dem Guajacol $C_9H_{12}O_2$ bestand und in Anbetracht der naheliegenden Siedepunkte an eine Trennung nicht zu denken.

Es blieb uns noch übrig, festzustellen, ob der Körper von der Zusammensetzung $C_9H_{12}O_2$ ein Aethyl- oder Dimethylguajacol ist.

Dass hier nur ein Hydroxyl frei ist, dafür spricht das schön krystallisirende Baryumsalz, das durch Zusatz vom heissem Barytwasser zu dem Guajacol und Um-

krystallisiren des abgeschiedenen Salzes aus heissem Wasser erhalten wurde. Das in dendritischen Formen auskrystallisirte Salz, Anfangs zwischen Fliesspapier, dann über SO_4H_2 bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab bei der Analyse folgende Zahlen: 0.4197 g gaben 0.2034 g SO_4Ba = 28.50 Proc. Ba. Die Formel $(C_9H_{11}O_2)_2Ba + 2H_2O$ verlangt 28.84 Proc. Ba. Das Salz lässt sich bei 100 bis 110° nicht trocknen, da es sich bei dieser Temperatur zersetzt, wobei unter Bräunung und Gewichtsverlust ein angenehmer Geruch nach Nelkenöl wahrnehmbar wird.

Eine Aufklärung darüber, ob hier ein Dimethylguajacol, $C_6H_2(CH_3)_2(OCH_3)OH$, oder ein Aethylguajacol, $C_6H_3(C_2H_5)OCH_3(OH)$, vorliegt, konnte durch Oxydation der Seitenketten oder durch Schmelzen mit Kali entschieden werden. Es zeigte sich, dass diese Verbindung, kurze Zeit mit Kali geschmolzen, ganz glatt in Protocatechusäure übergeführt wird. Es bilden sich sehr wenig harzige Producte, und der in Wasser gelösten und mit Salzsäure übersättigten Schmelze entzog Aether einen krystallinischen Körper, der, mit Thierkohle entfärbt, aus wenig heissem Wasser in schönen weissen Nadeln auskrystallisirte. Die Krystalle gaben alle Reactionen der Protocatechusäure. Sie enthielten Krystallwasser, das bei 110° vollkommen entwich. Die trockenen Krystalle schmolzen bei 198° und ergaben bei der Elementaranalyse folgende Zahlen: 0.2502 g Substanz gaben 0.5010 g CO_2 = 54.61 Proc. C und 0.0936 g H_2O = 4.15 Proc. H.

Protocatechusäure, $C_6H_3(OH)_2CO_2H$, verlangt: C 54.54 Proc., H 3.90 Proc., O 41.56 Proc. Zwischen zwei Uhrgläser geschmolzen spaltete die Säure CO_2 ab, und es sublimirte etwas Brenzcatechin, das bei 104° schmolz.

Aethyläther oder Aethylsubstitutionsproducte kommen bei den Pflanzenstoffen relativ selten vor, und in den meisten Fällen haben sich die vermeintlichen Aethyl- als Dimethylverbindungen erwiesen.

Es hiesse jedoch den gefundenen Thatsachen Zwang anthun, wenn wir den von uns gefundenen Körper nicht als Aethylguajacol, $C_6H_3(C_2H_5)(OCH_3)OH$, und zwar von der Stellung $C_2H_5 : OCH_3 : OH = 1 : 3 : 4$, anerkennen wollten.

Wir haben immerhin in der Hoffnung, den Körper $C_{11}H_{16}O_3$ zu erhalten, die zwischen 236 bis 240° siedende Fraction in das pikrinsaure Salz verwandelt. 80 g dieser Fraction wurden mit 120 g Pikrinsäure gefällt und das gut abgepresste und lufttrockene Salz mit Sodalösung im Ueberschusse versetzt und im Dampfstrome destillirt. Dem Destillate wurde das Phenol mit Aether entzogen, der Aether abdestillirt, das rückständige Phenol mit $CuSO_4$ entwässert und die 50 g des trockenen Phenols der fractionirten Destillation unterworfen. Die Flüssigkeit ging zwischen 232 bis 247° und die Hauptmenge bei 235 bis 237° über. Diese Fraction ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen: 0.2555 g gaben 0.6780 g CO_2 und 0.1868 g H_2O = 72.37 Proc. C und 8.12 Proc. H. Die Formel $C_{10}H_{14}O_2$ verlangt: C 72.29 Proc., H 8.43 Proc.

Auch die zwischen 240 bis 248° siedende Fraction wurde in das Pikrat verwandelt und daraus durch Zersetzen mit Soda im Dampfstrome die Phenole in Freiheit gesetzt und aus dem Destillate mit Aether ausgeschüttelt. Der Rectification unterworfen ging die Flüssigkeit zwischen 235 bis 255° und die Hauptmenge bei 240 bis 242° über. Das bei 240 bis 242° siedende Phenol war farblos, stark licht-

brechend, hat einen angenehmen, vanilleartigen Geruch und giebt mit Eisenchlorid die Guajacolreaction. In alkoholischer Lösung mit Barytwasser versetzt, färbt es sich blau. Sein specifisches Gewicht war = 1.0541 bei 20°. Die Elementaranalysen ergaben folgende Zahlen: 0.2582 g gaben 0.6885 g CO_2 und 0.1910 g H_2O = 72.72 Proc. C und 8.22 Proc. H. 0.2480 g gaben 0.6595 g CO_2 und 0.1822 g H_2O = 72.51 Proc. C und 8.16 Proc. H.

Auch diese Zahlen stehen am nächsten der oben mitgetheilten Formel $C_{10}H_{14}O_2$. Das Pikrat wurde wie üblich dargestellt. Es schied sich ein braunrothes Oel ab, das über Eis krystallinisch erstarrte. Die abfiltrirten Krystalle wurden in wenig verdünntem Alkohol gelöst, woraus beim langsamen Verdunsten rothe Nadeln auskrystallisirten, die abfiltrirt und auf Fliesspapier an der Luft getrocknet im Capillarröhrchen bei 59° schmolzen. Ihre Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

0.2166 g gaben 20.5 ccm N-Gas bei 20.4° und 757 mm Bst. = 10.77 Proc. N. 0.2050 g gaben 0.3675 g CO_2 und 0.0820 g H_2O = 48.89 Proc. C und 4.44 Proc. H. Die Formel $C_{10}H_{14}O_2 . C_6H_2(NO_2)_3OH$ verlangt: C 48.61 Proc., H 4.30 Proc. und N 10.63 Proc. Mit der sechsfachen Menge Kalihydrat geschmolzen lieferte dieses Phenol Protocatechusäure, welche aus heissem Wasser umkrystallisirt und getrocknet bei 199 bis 200° schmolz.

Es geht hieraus hervor, dass in dem Fichtentheer auch das Propylguajacol, $C_6H_3(C_3H_7)OCH_3OH$; $C_3H_7 : OCH_3 : OH$ = 1 : 3 : 4, enthalten ist. Allem Anschein nach ist dieses Propylguajacol mit dem Cörulignol von Pastrovich[1]) identisch. Aus dem hochsiedenden Antheil des Buchenholztheers erhielt Reichenbach einen Körper, welcher in alkoholischer Lösung mit Barytwasser Blaufärbung giebt und von Reichenbach als „oxydirendes Princip“ bezeichnet wurde. Nach Pastrovich ist dieses „oxydirende Princip“ das Cörulignol, das bei 240 bis 241° siedet und alle die oben angegebenen Eigenschaften hat. Das von Pastrovich durch Spaltung des Cörulignols mit HCl bei 140° erhaltene Phenol vom Schmelzp. 56° wäre daher ein Propylbrenzcatechin.

Die über 260° siedenden Fractionen geben mit Kalihydrat keine krystallinischen Salze mehr; auch mit Pikrinsäure oder Benzoylchlorid waren keine krystallisirenden Verbindungen erhältlich, und bei wiederholten Rectificationen änderte sich der Siedepunkt, da die Phenole unter Abspaltung von Wasser sich zersetzten. Es ist uns daher nicht möglich, genaue Angaben über ihre Zusammensetzung zu machen. Da die Hauptmenge der hochsiedenden Phenole zwischen 270 bis 280° überging, so haben wir sie analysirt. Das specifische Gewicht dieser Fraction war = 1.0663, sie war dickflüssig und färbte sich an der Luft rasch dunkel. Mit wenig Eisenchlorid entstand eine schmutziggrüne Färbung, die mit Soda ins Violette überging. In 20 proc. Kalilauge war diese Fraction vollkommen löslich. Die Elementaranalyse hiervon ergab uns folgende Zahlen: 0.2518 g gaben 0.6893 g CO_2 und 0.1880 g H_2O = 74.89 Proc. C und 8.25 Proc. H. 0.2647 g gaben 0.7269 g CO_2 und 0.1994 g H_2O = 74.89 Proc. C und 8.37 Proc. H.

---

[1]) Vergl. Pastrovich, Monatsh. f. Chem. **4**, 188 bis 192 und Ber. **16**, 1236.

Die erhaltenen Zahlen stehen am nächsten der empirischen Formel $C_{12}H_{16}O_2$, welche verlangt: C 75.00 Proc., H 8.33 Proc. und O 16.67 Proc.

Mit Kalihydrat geschmolzen gab diese Substanz kein krystallinisches Spaltungsproduct, trotzdem gab der ätherische Auszug der angesäuerten Schmelze alle Brenzcatechinreactionen. Es spricht die Thatsache dafür, dass das Phenol dieser, also der höchstsiedenden Fraction ebenfalls ein Brenzcatechinderivat ist.

Aus unserer Untersuchung der Phenole des Fichtentheers geht daher hervor, dass sie fast nur aus Guajacol und dessen Homologen, von denen wir das Methyl-, Aethyl- und Propylguajacol sicher nachgewiesen haben, bestehen. Dadurch würde sich der Nadelholztheer von den Laubholztheerarten, wie dem der Buche, der Birke und der Espe unterscheiden, denn in den letzteren Theerarten wurden neben geringen Mengen von einatomigen Phenolen in erheblichen Mengen Verbindungen des dreiatomigen Phenols, d. h. des Pyrogallols, gefunden. Es ist sehr leicht, in den hochsiedenden Phenolen des Holztheers Derivate des Pyrogallols durch Umwandlung derselben in Cörulignon (Oxychinondimethyläther) nachzuweisen. Man braucht z. B. die über 260° siedenden Phenole des Espentheers nur kurze Zeit mit einer Lösung von Kaliumbichromat zu schütteln, die Flüssigkeit erwärmt sich etwas, wird bald fest, und in der breiigen Masse findet man bei der mikroskopischen Untersuchung neben amorphen Körnern zahlreiche dunkel gefärbte Krystalle des Cörulignons. Mit den hochsiedenden Phenolen aus Fichtentheer haben wir auf diese Weise nie Cörulignon erhalten.

Ueber die Constitution der Verbindung $C_{11}H_{16}O_3$ und des hochsiedenden Phenols $C_{12}H_{16}O_2$ können wir nichts Bestimmtes sagen. Es gehören dazu weitere Untersuchungen; aber so viel ist sicher, dass auch diese Körper Derivate des Brenzcatechins sind. Diese höher siedenden Derivate des Guajacols sind in ihrer desinficirenden Kraft nicht schwächer als das Guajacol (vergl. hierüber die Tabellen 3, 4 und 5 dieser Arbeit). Möglicher Weise ist dies auch der Grund, dass der Fichtentheer stärker desinficirend als der Birkentheer ist.

II. Die flüchtigen Fettsäuren und die Pimarsäure.

Bei der Destillation des Theers gehen mit den Kohlenwasserstoffen und Guajacolen auch flüchtige Fettsäuren über, weshalb das Destillat sauer reagirt. Um die letzteren zu trennen, wurde das Destillat mit Sodalösung tüchtig durchgeschüttelt, das alkalische Waschwasser durch Scheidetrichter getrennt und auf dem Wasserbade verdunstet. Mehr als 90 Proc. der flüchtigen Fettsäuren bestehen aus Essigsäure, so dass beim Erkalten die concentrirte Lösung zu einem Krystallkuchen von essigsaurem Natron erstarrt. Durch mehrfaches Umkrystallisiren, unter Zusatz von Thierkohle, haben wir aus dem Anfangs braun gefärbten Krystallkuchen reines Natriumacetat dargestellt. Aus der Mutterlauge des rohen Natriumacetats wurden durch 30 proc. SO_4H_2 noch andere flüchtige Fettsäuren gefällt, die in Wasser nicht löslich waren. Es wurde daher die ganze Mutterlauge mit Schwefelsäure angesäuert und im Dampfstrome destillirt. Das Destillat war milchig, und auf der Oberfläche schwamm eine ölige Schicht. Durch Aussalzen wurden aus der wässerigen Lösung die Fettsäuren

abgeschieden, durch Scheidetrichter getrennt, über Phosphorsäureanhydrid getrocknet und rectificirt. Das Thermometer stieg rasch auf 165°. Der grösste Theil ging zwischen 170 bis 185° und zwischen 200 bis 210° über. Die letzten Antheile siedeten zwischen 230 bis 235°. Die einzelnen Fractionen wurden noch einmal destillirt, hierauf mit Ammoniak neutralisirt und mit Silbernitrat gefällt. Die niedrigst siedende Fraction — zwischen 165 bis 170° — ergab für das Silbersalz Zahlen, die am nächsten dem valeriansauren Silber, vielleicht mit etwas Butter- oder Essigsäure vermischt, entsprechen. 0.3959 g des trockenen Silbersalzes hinterliessen nach dem Glühen 0.2090 g Ag = 52.79 Proc. Ag. Valeriansaures Silber enthält 51.67 Proc. Ag. Die zwischen 180 und 185° siedende Fraction bestand aus Valeriansäure, wie aus folgender Bestimmung des Silbers hervorgeht: 0.3847 g gaben 0.2003 g Ag = 52.07 Proc. Ag. Die zwischen 205 bis 218° siedenden Fractionen gaben sämmtlich bei der Silberbestimmung dem capronsauren Silber entsprechende Zahlen. So gab die zwischen 205 bis 210° siedende Fraction für das Silbersalz folgende Zahlen: 0.5280 g gaben 0.2564 g Ag = 48.56 Proc. Ag.

Die Fraction zwischen 215 bis 218° lieferte folgende Zahlen: 0.2783 g gaben 0.1343 g Ag = 48.26 Proc. Ag. Die Formel $C_6H_{11}AgO_2$ verlangt 48.43 Proc. Ag.

Die höchstsiedende (zwischen 222 bis 228°) Fraction erwies sich als Oenanthsäure. 0.4462 g des Silbersalzes gaben 0.2047 g Ag = 45.88 Proc. Die Formel $C_7H_{13}AgO_2$ verlangt 45.57 Proc. Ag.

Die gewöhnliche Isovaleriansäure (Isopropylessigsäure) siedet bei 175°. Der Siedepunkt unserer Isovaleriansäure liegt etwas höher; auch das daraus dargestellte Guanamin krystallisirte nicht in den feingestreiften, schmalen oder längs der Hauptaxe zusammengewachsenen Nadeln, wie sie für das Guanamin der Isopropylessigsäure charakteristisch sind. Ebenso ist die aus Theer erhaltene Capronsäure sicher nicht die normale Capronsäure, deren Guanamin in den sehr charakteristischen, glitzernden, quadratischen Pyramiden, die zum Theil mit einer Basisfläche abgestumpft erscheinen, krystallisirt. Das Guanamin der Capronsäure aus Theer, selbst wiederholt umkrystallisirt, bildete immer kugelige, radial gestreifte, dem Leucin ähnliche Drüsen. Auch aus der Theerönanthsäure konnten wir nicht die rhombischen Tafeln, wie sie von Haff[1]) für das Oenanthoguanamin der normalen Säure beschrieben und abgebildet werden, erhalten.

Alle die drei Säuren aus Theer, in 20 proc. alkoholischer Lösung im Polaristrobometer untersucht, waren optisch inactiv.

Möglicher Weise sind in dem Fichtentheer noch andere, bei gewöhnlicher Temperatur feste Fettsäuren enthalten, die es uns aber von den Harzsäuren, auf die wir gleich zu sprechen kommen, zu trennen nicht gelang. Aus dem Birkentheer haben wir nämlich eine feste Fettsäure auf folgende Weise isolirt: 5 Liter Theer wurden mit dem halben Volumen 25 proc. Kalilösung geschüttelt und 24 Stunden ruhig stehen gelassen. Mehr als $^1/_3$ Theil des Theers ging in die alkalische Lösung, welche durch Scheidetrichter getrennt und mit Essigsäure zerlegt wurde, über. Von der Essigsäure wurde nur so viel zugesetzt, bis die abgeschiedene Phenolschicht

[1]) Journ. prakt. Chem. **43**, 75. — Dieser Band S. 229.

sich nicht mehr vermehrte. Die abgeschiedenen Phenole wurden im Dampfstrome destillirt. Aus dem Destillationsrückstande schieden sich beim Erkalten in reichlicher Menge grau gefärbte Krystallnadeln ab. Nach einigen orientirenden Versuchen wurde der ganze Retortenrückstand mit Aceton geschüttelt, der die Krystalle ungelöst zurückliess. Sie wurden abfiltrirt und mit Aceton nachgewaschen. Die abfiltrirten und abgepressten Krystalle wurden aus 60proc. heissem Alkohol umkrystallisirt, wobei sie nach mehrmaliger Wiederholung dieser Operation ganz weiss erhalten wurden. Auf Platinblech verbrannt verhielten sie sich wie das Salz einer kohlenstoffreichen Fettsäure und hinterliessen Kaliumcarbonat. Das Salz wurde nunmehr in Alkohol gelöst und durch Zusatz von etwas Salzsäure die freie Fettsäure in Form von weissen Nadeln gefällt. Wiederholt aus heissem Alkohol umkrystallisirt, krystallisirt die Säure in atlasglänzenden Nadeln, welche in Capillarröhrchen bei 60° schmolzen. Die Elementaranalyse der Säure ergab uns folgende Zahlen: 0.1894 g Substanz gaben 0.5323 g CO_2 = 76.64 Proc. C und 0.2186 g H_2O = 12.82 Proc. H.

Die erhaltenen Zahlen entsprechen am besten der Formel $C_{19}H_{38}O_2$, welche verlangt: C = 76.51 Proc. und H = 12.75 Proc. Wir haben die Säure nicht weiter untersucht; nur so viel ist zu bemerken, dass wir bei gleichem Verfahren aus dem Fichtentheer diese Säure nicht erhalten haben.

In dem Fichtentheer, namentlich in den schlechteren Sorten desselben, kommt dagegen in wechselnden Mengen eine andere krystallinische Säure vor, die wir nach eingehender Untersuchung als die optisch inactive Pimarsäure erkannt haben. Die Säure ist in dem Theer theils gelöst, theils krystallinisch suspendirt. In letzterem Zustande haben wir sie in geringen Mengen in dem aus Finnland bezogenen Theer Marke B und C, ebenso in einem anderen finnländischen gefunden. In einem Fass durch Vermittlung des Herrn Olsen aus Archangelsk bezogenen Theers bildete der letztere wegen seines hohen Gehaltes an Pimarsäure einen dicken Krystallbrei, weshalb wir auch diesen Theer zur Isolirung und Untersuchung der Säure verwendet haben. Unser Verfahren war folgendes: Der breiige Theer wurde in dünner Schicht auf Ziegelsteine ausgebreitet und so die Krystalle möglichst vom Theer getrennt. Die nach mehrtägigem Stehen abgeschabten Krystalle werden am zweckmässigsten mit Ligroin in der Kälte geschüttelt und nach mehrstündigem Stehen, wenn die braunen, schmierigen Producte sich abgesetzt haben, filtrirt. Nach Abdestilliren des grössten Theils des Ligroins wird der Rest in eine flache Schale gegossen und mit etwas wässerigem Alkohol versetzt, worauf nach ein- bis zweitägigem Stehen die Flüssigkeit zu einem Krystallkuchen erstarrt; die möglichst von der Mutterlauge befreiten Krystalle werden zwischen Fliesspapier abgepresst und noch einige Male aus Ligroin umkrystallisirt. Um sie völlig rein zu erhalten, haben wir die Krystalle entweder in verdünnter Natronlauge gelöst und das Filtrat mit Salzsäure gefällt, wobei sich die Säure amorph abscheidet, oder auch die Säure aus 80proc. Alkohol umkrystallisirt und die zuerst abgeschiedenen Krystalle Anfangs auf Fliesspapier, hierauf über SO_4H_2 bis zum constanten Gewichte getrocknet.

Die Säure erwies sich als stickstoff- und schwefelfrei; sie enthielt auch keine Spur Asche und ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2685 g der Substanz gaben 0.7804 g CO_2 = 79.36 Proc. C und 0.2454 g H_2O = 10.15 Proc. H.

0.2218 g gaben 0.6486 g CO_2 und 0.1992 g H_2O = 79.75 Proc. C und 9.93 Proc. H.

0.3123 g gaben 0.9111 g CO_2 und 0.2789 g H_2O = 79.57 Proc. C und 9.97 Proc. H.

Das erste Präparat war krystallinisch, durch Umkrystallisiren aus Alkohol erhalten, die beiden letzten amorph, aus der alkalischen Lösung durch Salzsäure gefällt. Die Formel der Pimarsäure, $C_{20}H_{30}O_2$, verlangt 79.47 Proc. C und 9.93 Proc. H.

Um uns eine Gewissheit von der Richtigkeit der Formel zu verschaffen, haben wir eine Molekulargewichtsbestimmung der Verbindung nach der Raoult'schen Methode, wobei Phenol als Lösungsmittel angewendet wurde, ausgeführt.

1. Angewandte Substanz = 0.2265 g; angewandtes Phenol = 21.860 g. Beobachtete Depression = 0.27° und daraus Molekulargewicht = 292 [1]).

2. Angewandte Substanz = 0.231 g; angewandtes Phenol = 25.562 g. Beobachtete Depression = 0.23° und daraus Molekulargewicht = 298.

Das aus der Formel $C_{20}H_{30}O_2$ berechnete Molekulargewicht ist = 302. Die Pimarsäure aus Fichtentheer ist in Wasser unlöslich, leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol und Petroläther, weniger in Alkalien und Ammoniak. Die ammoniakalische, warm filtrirte Lösung erstarrt beim Erkalten zu einer durchsichtigen Gallerte. Mit ammoniakalischer Chlorbaryum- oder Chlorcalciumlösung giebt die Säure ebenfalls in Ammoniak gelöst weisse, amorphe Niederschläge des Baryum- resp. Calciumsalzes. Das so erhaltene Calciumsalz wurde abfiltrirt, mit verdünntem Ammoniak gut ausgewaschen und Anfangs zwischen Fliesspapier, hierauf über SO_4H_2 getrocknet. 0.2606 g des Calciumsalzes hinterliessen nach dem Glühen 0.0216 g CaO = 5.92 Proc. Ca. Die Formel $(C_{20}H_{29}O_2)_2Ca$ verlangt 6.23 Proc. Ca. Durch ammoniakalische Silber-, Zink- oder Kupferlösung wird die Säure aus der ammoniakalischen Lösung nicht gefällt. Vermischt man eine concentrirte, warme, alkoholische Lösung der Säure mit ebenfalls concentrirter alkoholischer Lösung von Bleiacetat, so krystallisirt bei langsamem Erkalten in weissen rhombischen Nadeln das Bleisalz der Pimarsäure aus. Mit Pikrinsäure verbindet sich die Säure nicht. Präparate von verschiedener Darstellung herrührend und wiederholt in einem empfindlichen Halbschattenapparat geprüft, erwiesen sich in 5- bis 10proc. alkoholischer Lösung als auf das polarisirte Licht unwirksam.

Die gründlichste Untersuchung über die Pimarsäure aus französischem Galipot hat vor einigen Jahren Albert Vesterberg [2]) veröffentlicht. Er wies nach, dass darin zwei isomere Säuren von der Zusammensetzung $C_{20}H_{30}O_2$ enthalten sind, welche beide optisch activ im entgegengesetzten Sinne das polarisirte Licht drehen. Die Dextropimarsäure schmilzt bei 210 bis 211° und hat das specifische

[1]) Die Constante für Phenol, dessen Schmelzpunkt bei 41.8° lag, ist hier = 76 angenommen. Es ist dies die aus der latenten Schmelzwärme von van 't Hoff berechnete Durchschnittszahl. Vergl. Ernst Beckmann, Zeitschr. f. physik. Chem. **7**, 328.

[2]) Ber. **18**, 3331; **19**, 2167; **20**, 3248.

Drehungsvermögen $\alpha_{[D]} = + 72.5^0$. Die Lävopimarsäure schmilzt bei 140 bis 150° und hat die specifische Drehung $\alpha_{[D]} = - 272^0$.

Mit der Pimarsäure ist die Copaivasäure und die Sylvinsäure isomer. Liebermann und Haller[1]) geben an, dass ihre Pimarsäure, gleich wie die unserige, optisch inactiv war. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob die inactive Säure im gleichen Verhältnisse zu der Dextro-, resp. zu der Lävopimarsäure steht, wie die inactive Milchsäure zu der Rechts- resp. Linksmilchsäure. Es wird sich dabei zeigen, ob die Sylvinsäure identisch mit der Pimarsäure oder davon verschieden ist. Für Sylvinsäure fanden Liebermann und Haller sowie Siewert den Schmelzpunkt 162°, Duvernoy 129°, Valente 146 bis 148°. Pimarsäure war bei Liebermann und Haller bei etwa 120° weich und schmolz bei 149°. Für gleiche Säure fanden den Schmelzpunkt Laurent bei 125°, Duvernoy bei 149°, Siewert bei 155°, Maly bei 165°. Mit der Pimarsäure aus Fichtentheer machten wir die gleiche Beobachtung wie andere Chemiker mit den Harzsäuren, dass sie beträchtlich unter ihrem Schmelzpunkt erweichen, wodurch eine scharfe Bestimmung nicht gut möglich ist. Dies ist allerdings der Fall, so lange die Säure nicht absolut rein ist. Wir haben mit einer Pincette wohlausgebildete, wasserklare Krystalle der Pimarsäure auserlesen, zwischen Fliesspapier und dann über SO_4H_2 getrocknet. Die Krystalle schmolzen ganz scharf bei 161°. Ueber die Beziehungen der Copaivasäure, die zuletzt von Rich. Brix[2]) untersucht wurde, zur Pimarsäure lässt sich nichts Bestimmtes sagen. Hingegen würde die Abietinsäure nach den eben publicirten Untersuchungen von Mach[3]) die Zusammensetzung $C_{19}H_{28}O_2$ haben, also das um ein Methyl ärmere Homologe der Pimarsäure sein.

Pimarsäure, wie Liebermann[4]) angegeben, in Essigsäureanhydrid gelöst, giebt nach Zusatz von wenig concentrirter SO_4H_2 eine blaue bis blauviolette Färbung, die bald verschwindet. Mittelst dieser Reaction konnten wir im vollkommen klaren Fichtentheer die Gegenwart der Pimarsäure nachweisen. Espentheer, der ähnlich wie der Fichtentheer suspendirte Krystallnadeln und Blättchen enthielt, in Essigsäureanhydrid gelöst, färbt sich nach Zusatz von SO_4H_2 rothbraun. Der Theer wurde mit Petroläther ausgeschüttelt, filtrirt und der Petroläther abdestillirt. Der Rückstand erstarrte zu einer salbenartigen Masse, die, mit starker Essigsäure versetzt, sich darin löste, mit Hinterlassung eines weissen krystallinischen Rückstandes. Die Krystalle, in Essigsäureanhydrid gelöst, gaben, nach Zusatz von concentrirter SO_4H_2, wiederum die rothbraune Färbung. Auch der Birkentheer, der keine Krystalle enthält, giebt nicht die Pimarsäurereaction, indem er dabei nur rothbraun gefärbt wird.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Magister pharmaciae W. Adolphi, der uns bei der Ausführung dieser Untersuchungen mit grosser Ausdauer und Geschick unterstützte, unseren aufrichtigen Dank an dieser Stelle dafür auszusprechen.

---

[1]) Ber. **18**, 2165.
[2]) Monatsh. f. Chem. **2**, 507. Ber. **14**, 2267.
[3]) Monatsh. f. Chem. **14**, 186 (1893).
[4]) Ber. **17**, 1886.

III. Die Desinfectionsversuche.

Die vorausgegangene chemische Untersuchung des Nadelholztheers ist hauptsächlich deshalb unternommen worden, um die einzelnen desinficirenden Bestandtheile desselben zu isoliren, nachdem wir uns durch die ersten orientirenden Versuche von der desinficirenden Wirkung des Holztheers überzeugt hatten. Bevor wir aber unsere hierauf bezüglichen Versuche angeben, ist es zweckmässig, die uns dabei leitenden Gesichtspunkte über Desinfection hervorzuheben und das von uns angewendete Prüfungsverfahren kurz zu beschreiben.

Als Wissenschaft ist die Bacteriologie kaum zwei Decennien alt, aber schwerlich auf einem anderen Gebiete der Medicin ist eine so rege Thätigkeit und in Folge dessen eine so umfangreiche Literatur, als wie gerade hier, in so kurzer Zeit entstanden. Naturgemäss haben sich auch hier die Methoden der Desinfection erst allmählich herausgebildet. Die von verschiedenen Autoren ausgeführten Untersuchungen geschahen nicht nach gleichem Schema, und so ist es erklärlich, dass die Angaben selbst zuverlässiger Beobachter durchaus nicht mit einander übereinstimmen. So wurde z. B. von R. Koch[1]) in seiner musterhaften Arbeit über Desinfection angegeben, dass Milzbrandsporen, zwei Tage lang mit Carbolsäure in wässeriger 5 proc. Berührung gelassen, abgetödtet werden. Sein Schüler C. Fränkel[2]) aber findet, dass selbst in 20 bis 40 Tagen dies noch nicht der Fall ist. Das Alter der Sporen, die Dicke und der Wassergehalt der umhüllenden Membran sind hier von wesentlicher Bedeutung, so dass C. Fränkel, mit Rücksicht auf die Abtödtung, die Milzbrandsporen in vier Kategorien eintheilt, nämlich:

1. Schwach widerständige.
2. Mittelwiderständige.
3. Hochwiderständige.
4. Aeusserst widerständige.

Von wesentlichem Einfluss ist das Substrat, auf welchem die Bacterien sich befinden. So ist nach C. Fränkel von einer 1 pro Mille Sublimatlösung, „ceteris paribus“, zur Tödtung der Bacterien die 20fache Menge nöthig, wenn sie in der gewöhnlichen Nährbouillon, und die 250fache Menge, wenn sie in Blutserum sich befinden, als wenn sie in reinem Wasser abgetödtet sind. Es ist klar, dass die chemische Reaction des Desinficiens mit dem Nährsubstrat, Bildung von Niederschlägen, Gerinnungen, hier eine Rolle spielen. Von Einfluss ist ferner die Temperatur, bei welcher das Desinficiens auf die Bacterien einwirkt. So fand Henle, dass eine 1 : 100000 Sublimatlösung Cholerabacterien während einer Stunde bei —3° C. nicht abtödtet, wohl aber bei 36° C., wie überhaupt die Desinfection bei der Bruttemperatur die wirksamste ist. Will man nach vollzogener Einwirkung des Desinficiens den Erfolg prüfen, so ist es nothwendig, nicht zu wenig des desinficirten Materials, also nicht eine, sondern drei Platinösen und nicht in weniger als in 10 bis 15 ccm steriler Bouillon resp. in Gelatine oder Agar (um Platten zu giessen) zu

[1]) Ueber Desinfection. Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte **1**, 234 (1881).
[2]) Zeitschr. f. Hygiene **6**, 521 (1889).

übertragen. Ueberimpfung einer pathogene Bacterien enthaltenden und desinficirten Nährlösung auf Thiere ist kein Beweis für die Abtödtung derselben, wenn die Thiere gesund bleiben. Im Allgemeinen besteht die erste Einwirkung der Antiseptica auf die Lebewesen in der Verminderung oder Vernichtung ihrer biologischen Functionen, wie Gährtüchtigkeit, Virulenz und dergl. mehr. Erst bei weiterer Einwirkung des Desinficiens geht auch das Wachsthum und die Vermehrungsfähigkeit zu Grunde.

Wir unterscheiden die desinficirende, d. h. mikrobentödtende Wirkung, chemischer oder physikalischer Agentien, von der antiseptischen, d. h. nur das Wachsthum und die Vermehrung hindernden Wirkung derselben. Bei der so ausserordentlich verschiedenen chemischen und physikalischen Zusammensetzung im Bau der Leibessubstanz der einzelnen Spaltpilze wird es daher öfters vorkommen, dass eine und dieselbe Substanz, „ceteris paribus", für die eine Bacterienart desinficirend, für eine andere nur antiseptisch sein wird. Wir unterscheiden ferner unter den desinficirenden Substanzen solche, welche die Mikroben selbst, d. h. ihre entwickelungs- und vermehrungsfähigen Wuchsformen abtödten, von solchen, die auch ihre Dauerformen, d. h. die Sporen zu vernichten vermögen. Dass die letzteren den desinficirenden, resp. antiseptischen Agentien gegenüber viel widerständiger als die Wuchsformen sein müssen, konnte man a priori erwarten und ist diese Thatsache vielfach experimentell bestätigt worden.

Um möglichst der Wirklichkeit entsprechende und unter einander vergleichbare Resultate bei Prüfung einer Substanz auf ihre antiseptischen Eigenschaften zu erzielen, wird in unserem Laboratorium folgendes Verfahren angewendet.

Von einer im Reagensröhrchen befindlichen Bouilloncultur, etwa 10 ccm einer zwei Tage früher geimpften und bei Bruttemperatur gewachsenen Aussaat der Mikroben, z. B. Typhus, Diphtherie, Cholera, Staphylococcen, B. pyocyaneus u. s. w., wird zunächst in ein Controlröhrchen mit steriler Bouillon abgeimpft. Hierauf wird die Bacterien enthaltende Bouillon mit einem bestimmten Volumen, sei es 1 oder 2 ccm, oder gleichen Volumen einer Lösung des zu prüfenden Desinficiens übergossen und kräftig geschüttelt. In bestimmten Zeitintervallen von 2 bis 4, 6 bis 10, 20, 30 Minuten, nachher je eine halbe Stunde, wird von dieser Flüssigkeit so viel, wie an einer Platinöse haftet, dreimal in sterile Bouillon übertragen. Vor jedesmaligem Abimpfen wird die Flüssigkeit von Neuem geschüttelt, wobei das Reagensglas zweckmässig mit einem Gummipfropfen verschlossen wird. Sämmtliche übergeimpfte Proben und die abgeimpfte Controlcultur lassen wir im Thermostaten bei der Bruttemperatur stehen. Die geimpften Röhrchen werden täglich, während 10 bis 15 Tagen, besichtigt. Bleiben Bouillon, resp. die zur Controle geimpften Gelatine- oder Agarröhrchen vollkommen klar, so ist das ein sicheres Zeichen, dass kein Wachsthum stattgefunden hat. Zeigt aber die Bouillon nur eine geringe Trübung, so wird die Flüssigkeit mikroskopisch untersucht, sowohl an ungefärbten als wie gefärbten Präparaten. Ein Geübter wird sich schon bei der makroskopischen Besichtigung in der Diagnose nicht irren und in den meisten Fällen erkennen, ob in der trübe gewordenen Bouillon die übergeimpften Bacterien oder andere, bei nicht gutem Watteverschluss aus der Luft hinein gerathene, ausgewachsen sind. Zur Controle wird in das steril

gebliebene klare Bouillonröhrchen die gleiche Spaltpilzart geimpft, wobei das nun bei der Bruttemperatur nach Verlauf von 1 bis 3 Tagen eingetretene Wachsthum den Beweis liefert, dass die Bouillon zur Entwickelung der ursprünglich übergeimpften Bacterien geeignet war. Für einzelne Bacterienarten sind Abweichungen von diesem Verfahren nöthig. Handelt es sich z. B. darum, die Wirkung des Desinficiens auf Tuberkel- oder Milzbrandbacillen zu prüfen, so ist es nothwendig, die Proben 15 bis 20 Tage im Thermostaten bei 37.5 bis 38° C. stehen zu lassen.

Hinsichtlich der Sporenprüfung sind wir bei dem ursprünglich von R. Koch angegebenem Verfahren stehen geblieben. Weder Papierschnitzel, noch Nägel, Glasplättchen und dergl. mehr haben irgend einen wesentlichen Vortheil, nur wenden wir statt Seide kleine, 1 cm lang geschnittene Leinen- oder baumwollene Fäden an. Die mit dem Sporenmaterial in üblicher Weise imprägnirten Fadenstückchen wurden mit Theer in Substanz, alkalischen oder sauren Theerlösungen eine bestimmte Zeit in Berührung gelassen, hierauf in absoluten Alkohol übertragen, bis der bräunlich gefärbte Faden abfärbte, und von hier aus in die sterile Bouillon gebracht. Die Proben mit den Seidenfäden müssen im Thermostaten nicht kürzer als sechs Tage, eher länger verbleiben, da das Wachsthum von abgeschwächten Sporen zu Bacillen manchmal erst am dritten bis vierten Tage sich einstellt.

Da erfahrungsgemäss die Abtödtung der Bacterien schwieriger in Gelatine, Agar oder Blutserum, als in Bouillon geschieht, so haben wir in einer besonderen Versuchsserie Culturen der zu untersuchenden Bacterien auf Serum mit der Lösung des Desinficiens in gleicher Weise behandelt und von hier aus in die sterile Bouillon übertragen (vergl. Tabelle 1). Wir fanden ferner, dass einzelne Bacterien, wie z. B. die Cholerabacillen, viel leichter in Reincultur als im Gemische mit anderen Bacterien, z. B. den übrigen Darmmikroben, abgetödtet werden. Auch hier wurden deshalb Parallelversuche ausgeführt, wobei die Wirkung des Desinficiens einerseits auf die Reincultur der Kommabacillen, mit anderen aus einem Darmstückchen von Cholera-leichen, in Bouillon ausgewachsenen Mikroben, geprüft wurde. Hinsichtlich der Wahl der Culturen als Testobjecte lassen sich bei der grossen Anzahl und Mannigfaltigkeit der Mikroben und mit Rücksicht auf besondere Zwecke keine bestimmten Regeln aufstellen. Nicht immer und überall handelt es sich übrigens um Sporenabtödtung und hat beispielsweise die Carbolsäure, obgleich sie resistente Milzbrandsporen nicht tödtet, im praktischen Leben schon unschätzbare Dienste geleistet. Wir haben unsere Versuche vorzugsweise mit dem Koch'schen Kommabacillus, als den schwächsten, und dem B. pyocyaneus als den resistentesten, ausserdem leicht kenntlichen Wuchsformen angestellt. Die von uns verwendeten Milzbrandsporen würden nach der Classification C. Fränkel's zu den hochwiderstandsfähigen gehören. Sie wurden von einem an Milzbrand verstorbenen Menschen gezüchtet. In einzelnen Fällen haben wir die Wirkung des Theers und seiner Präparate auf Typhus- und Diphtheriebacillen, sowie Staphyloc. aureus geprüft. Einen wirklichen praktischen Werth können solche Desinfectionsversuche nur dann haben, wenn sie möglichst den natürlichen Verhältnissen angepasst sind. Gleich wie die zerstörende Wirkung der Hitze nur dort wirkt, wo sie wirklich ist, können auch die flüssigen Desinficientia nur beim directen Contact ihre Wirkung haben. In schleimige, fettige Schmutz-

krusten eingeschlossene Mikroben können auch durch die stärksten Desinficientia nicht beeinflusst werden, wenn durch mechanische Mittel die directe Berührung des Desinficiens mit den Mikroben nicht geschieht. Im Laufe unserer Versuche sahen wir, dass die Theerpräparate sehr verschieden desinficirenden Effect hatten, je nachdem sie bei Bruttemperatur oder bei 10 bis 20° auf die Bacterien oder Sporen einwirkten. Wir haben daher auch hierüber parallele Versuche angestellt (s. Tabelle 6). Eine desinficirende oder antiseptische Substanz muss eine ganze Reihe von Eigenschaften besitzen, die sie alle nicht in gleich vollkommenem Grade haben kann, und schwerlich wird sich eine antiseptische Substanz finden, welche alle Anforderungen des praktischen Lebens in gleichem Grade erfüllt. Ausser der sicheren und schnellen Wirkung soll das Desinficiens den menschlichen, resp. den thierischen Organismus nicht belästigen; es soll die Objecte bacterienfrei machen, aber sie selbst weder zerstören, noch schädigen, dabei wo möglich billig, leicht zu handhaben und allgemein zugänglich sein. Es ist klar, dass selbst ein gutes Desinfectionsmittel nicht für alle Zwecke in der gleichen Form gut sein kann. So ist speciell der Holztheer zur Desinfection der Abtrittsgruben, Canäle, Strassen, Transportwaggons, Schiffe und dergl. mehr ganz gut geeignet, wenn er entweder als solcher, oder mit heissem Wasser emulgirt angewendet wird. Für andere Zwecke eignet er sich besser, wenn er in saurer Lösung als Holzessig oder Theerwasser angewendet, oder durch Zusatz von Alkali löslich gemacht wird. Eine stark desinficirende Wirkung haben die zwischen 200 bis 300° in dem Fichtentheer enthaltenen Phenole, wenn sie rein isolirt und in verdünnter Aetzkali- oder Aetznatronlösung angewendet werden (vergl. Tabelle 2). Therapeutisch wird endlich das aus dem Holztheer gewonnene Kreosot, d. h. das zwischen 200 bis 220° siedende und wesentlich aus Guajacol und Homoguajacol bestehende Gemisch, hauptsächlich bei Lungenphthise, angewendet.

In dem chemischen Theil haben wir schon die verschiedene Procentzusammensetzung des Fichtentheers, je nach seiner Herkunft, mitgetheilt. Die bacteriologische Prüfung zeigte uns ferner, dass die antiseptische Wirkung einzelner Theersorten nicht allein von dem Gehalte an Phenolen, sondern auch von seinem Säure- und Wassergehalt, Consistenz u. s. w. abhängig ist, wie dies die Tabellen gut illustriren (vergl. Tabelle 3 u. 6).

So lange der Holztheer in Russland nicht nach einem einheitlichen Verfahren, sondern in einzelnen Gegenden in Thermokesseln, in anderen in sehr primitiven Kohlenmeilern bereitet wird, so lange ist es nöthig, dass der Theer für Desinfectionszwecke, sei es in den Apotheken, sei es in besonders dazu eingerichteten Controlstationen, vorerst auf seine Zusammensetzung und Wirksamkeit geprüft werde. Wir haben verschiedene Sorten des Birkentheers auf ihre desinficirende Kraft geprüft und sie durchgängig weniger wirksam als den Fichtentheer gefunden. Diese Theerart würde daher für die praktische Verwerthung nicht in Betracht kommen; natürlich gilt dies nicht von den daraus dargestellten Phenolen. Ueber den praktischen Werth des Espentheers können wir nichts Bestimmtes sagen. Unsere Untersuchung über die chemische Zusammensetzung dieser Theerart ist noch nicht beendet. Zwei durch Vermittelung des Herrn Provisor Bormann als garantirt rein bezogene Muster waren specifisch schwerer als Wasser und in ihrer desinficirenden Kraft annähernd

dem guten Fichtentheer gleich. Ein drittes aus Nowgorod erhaltenes Muster von Espentheer, das specifisch leichter als Wasser war, hatte nur geringe desinficirende Wirkung; dieses Product war allem Anscheine nach mit Naphta vermischt (vergl. Tabelle 1).

Als gutes Desinficiens kommt noch ein Nebenproduct der Theerfabrikation in Betracht: der Holzessig. Dieses Product, das eine gesättigte wässerige Lösung der Theerphenole mit 5- bis 6 proc. Essigsäure darstellt, ist als Acetum pyrolignosum officinell. Durch Auskochen des Theers mit Wasser erhält man eine ähnliche Lösung, welche der „Aqua picis“ der Pharmakopöe entsprechen würde. Die Podsmolnaja Woda, resp. das Acetum pyrolignosum sind in ihrer desinficirenden Wirkung der 5 proc. wässerigen Carbolsäure gleich, übertreffen sie sogar, da sie, nach vier- bis sechstägiger Einwirkung, hoch widerstandsfähige Milzbrandsporen tödten (vergl. Tabelle 5 u. 6). Ein anderes von uns ausprobirtes Präparat war die alkalische Theerlösung, die auf folgende Weise bereitet wurde: 1 Theil Theer wurde mit 20 Gewichtstheilen 1 proc. Kali- oder Natronlösung in der Wärme gelöst und entweder sofort angewendet, oder 24 Stunden lang in gut verschlossenen Gefässen stehen gelassen und von dem geringen harzigen Bodensatze filtrirt. Wie aus der Tabelle 7 hervorgeht, wirken solche Lösungen stark desinficirend. Längere Zeit an der Luft stehen gelassen, verlieren sie an Wirksamkeit. Solche alkalische Lösung kann man übrigens noch viel concentrirter bereiten. Das Alkali bildet mit der Pimarsäure und den Harzsäuren Seife, die, ähnlich wie im Lysol, die Guajacole in Lösung hält. Statt Kali oder Natron haben wir auch Kalkmilch angewendet, und zwar auf 1 Gewichtstheil Theer 20 ccm 2- bis 5 proc. Kalkmilch. Die desinficirende Wirkung solcher Lösungen ist ziemlich die gleiche wie die der Lösungen des Theers in Aetzalkalien. Vergleiche hierüber die Tabelle 8.

Schwächer als die Lösungen in Aetzalkalien wirken die Lösungen in Soda oder Holzasche. Mit Rücksicht aber darauf, dass auch in den entlegensten Gegenden Russlands jeder Bauer aus Holztheer und Holzasche sich gleich eine desinficirende Lösung bereiten kann, haben wir die Wirkung derartiger Lösungen geprüft. Die Lösungen mit Holzasche werden zweckmässig so bereitet, dass ein Theil Asche mit zehn Theilen warmen Wassers zu einem Brei angerührt wird, ähnlich wie bei der auf dem Lande üblichen Bereitung der Lauge für die Wäsche. Die nach Absetzen der Asche klar abgegossene Lauge wird mit Theer im Verhältnisse von 5 bis 10 Theilen Theer auf 100 Theile Lauge so lange geschüttelt, bis eine gleichmässige Emulsion entsteht, und gleich angewendet. Die Tabellen 9 und 10 illustriren die desinficirende Wirkung solcher Lösungen des Fichtentheers.

Wir haben auch versucht, aus Leinöl, Kalihydrat und Holztheer nach Art des Lysols antiseptische Lösungen zu bereiten. Durch vierstündiges Kochen am Rückflusskühler von 22 Theilen Theer mit 6.3 Theilen Kalihydrat und 33 Theilen Leinöl, oder durch dreistündiges Kochen von 29.5 g Theer mit 5.5 g Kalihydrat und 24.5 g Leinöl werden dickliche, braun gefärbte Lösungen erhalten, die in allen Verhältnissen mit Wasser mischbar sind. Die desinficirende Wirkung solcher Holztheerlysole ist jedoch ziemlich gering, und für alkalische Theerlösungen, wo Fett- und Harzsäuren schon enthalten sind, ist der Zusatz von Leinöl eigentlich überflüssig.

Wir haben bis jetzt nur die desinficirende, d. h. bacterientödtende Wirkung des Holztheers und seiner Präparate berücksichtigt. Wir haben aber auch die antiseptische, d. h. die wachsthums- und vermehrungshemmende Wirkung dieser Präparate untersucht. Die Prüfungen wurden zum Theil nach dem von Behring[1]) empfohlenen Verfahren in hängendem Tropfen auf hohlen Objectträgern ausgeführt; andererseits haben wir zu 10 ccm steriler Bouillon mittelst einer Pipette von 1 ccm Rauminhalt, in 100 Theile getheilt, abgemessene Mengen der antiseptischen Lösung zugesetzt und hierauf mit der zu prüfenden Bacterienart geimpft und bis zu vier Wochen im Thermostaten stehen lassen. Die Tabellen 11, 12 und 13 illustriren die mit dem Theerwasser und Holzessig erhaltenen Resultate.

Resumiren wir die Ergebnisse unserer Untersuchung, so geht zur Genüge daraus hervor, dass der Holztheer, sei es als solcher, sei es in Form verschiedener daraus dargestellter Präparate, als Desinficiens für die grobe Desinfection die Carbolsäure vollkommen zu ersetzen im Stande ist. Ein wesentlicher Uebelstand beim Holztheer ist die in Folge seiner verschiedenartigen Darstellungsweise ungleichmässige Zusammensetzung und in Folge dessen auch ungleichmässige antiseptische Wirkung. Diesem Uebelstande könnte aber durch staatliche Controle abgeholfen werden. Wir sind weit davon ertfernt, zu behaupten, dass die Holztheerpräparate alle übrigen Desinficientia ersetzen können. Der strömende Wasserdampf, Sublimat, Chlorkalk u. s. w. werden in der Desinfectionspraxis noch lange ihre Stellung behalten. Andererseits wird Hand in Hand mit den Fortschritten der Chemie mit jedem Jahre die Zahl brauchbarer und sicher wirkender desinficirender Mittel anwachsen, wie z. B. die eben in unserem Laboratorium untersuchten Chlorphenole[2]). Die Vorzüge des Holztheers gegenüber der Carbolsäure und ganz speciell für Russland sind offenkundig. Der Holztheer, und namentlich der wirksamere Fichtenholztheer, ist bedeutend billiger, Jedermann bekannt und zugänglich und seine Bestandtheile für den menschlichen resp. thierischen Organismus viel weniger als die reine Carbolsäure giftig; nicht zu unterschätzen ist der Umstand, dass der Holztheer nicht allein desinficirend, sondern auch in hohem Grade desodorirend ist. Von allen den bacteriologisch untersuchten Präparaten können wir für die Desinfection in erster Linie die alkalische Theerlösung und dann auch den Holzessig empfehlen.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. Nr. 41 bis 43, 1889.

[2]) Siehe unten die Arbeiten der Herren Karpow, Tschurilow und Spengler.

Tabelle 1. Vergleichende Tabelle der desinficire

Die Zeit ist in Minuten angegeben. Zeichen + be

Bezeichnung der angewendeten Theerarten	Bouillon-Culturen																	
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche					Koch'scher Kommabacillus					B. typhi abdominalis					Bacillu pyocyan		
	M. 5	M. 10	M. 25	M. 45	M. 120	M. 5	M. 10	M. 25	M. 45	M. 120	M. 5	M. 10	M. 25	M. 45	M. 120	M. 5	M. 10	M. 45
Fich																		
Fichtentheer 0.5 ccm zu 10 ccm der Cultur	+					+										+	+	−
Fichtentheerwasser 10:10 der Cultur	+	+	+			+	+				+	+				+	+	+
Alkalischer Fichtentheer 10:10 . .	+	+				+					+					+	+	−
Es																		
Espentheer 0.5 ccm zu 10 ccm der Cultur	+	+				+	+				+				—	+	−	−
Espentheerwasser 10:10 der Cultur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			—	+	+	+
Alkalischer Espentheer 10:10 . .	+	+				+	+				+	+			—	+	−	−
Bir																		
Birkentheer 0.5 ccm zu 10 ccm der Cultur	+	+	+	+		+	+	+	+	—	+	+	+		—	+	+	+
Birkentheerwasser 10:10 der Cultur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+		—	+	+	+
Alkalischer Birkentheer 10:10 . .	+	+	+	—		+	+		—	—	+	+	—	—	—	+	+	+
Ca																		
10 ccm 5 proc. roher Carbolsäure auf 10 ccm der Cultur	+	+				+		—	—							+	—	−
10 ccm 5 proc. reiner Carbolsäure auf 10 ccm der Cultur	+					+		—	—							+	—	−

:ung von Fichten-, Espen- und Birkentheer.

:thum. Zeichen — Ausbleiben des Wachsthums.

Blutserum-Culturen.																		
rmbacterien aus er Choleraleiche				Koch'scher Komma-bacillus					B. typhi abdominalis					Bacillus pyocyaneus				
M. 30	M. 45	M. 120	M. 180	M. 15	M. 30	M. 45	M. 120	M. 180	M. 15	M. 30	M. 45	M. 120	M. 180	M. 15	M. 30	M. 45	M. 120	M. 180
—	—	—	—	+			—	—	+			—	—	+	+	—	—	—
+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
+	—	—	—	+	+		—	—	+	+		—	—	+	+	+	—	—
+	+	—	—	+	+		—	—	+	+	+	—	—	+	+			—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
+	—	—	—	+	+		—	—	+	+		—	—	+	+	+		—
+	+	+		+	+	+	—		+	+	—	—	—	+	+	+	+	—
+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	—	—	—	+	+	+	+	—
+	+	—		+	+		—	—	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—
				+	+	+	+	+										
				+	+	+	+	+										

Tabelle 2. Desinficirende Versuche mit den verschiedenen Fractionen aus Fichtentheer in wässeriger und alkalischer Lösung.

Die Culturen wurden mit dem gleichen Volumen der desinficirenden Flüssigkeit übergossen. Die Zeit der Einwirkung ist bis zu $^3/_4$ Stunden in Minuten, von da ab in Stunden angegeben. Zeichen + bedeutet Wachsthum, Zeichen — Abtödtung.

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit		2	4	6	8	10	12	15	20	25	35	45	1	2	3	4	5	6
Fraction des Fichtentheers, welche zwischen 170 bis 200° überdestillirt. Davon 1 ccm in 1 Liter warmen Wassers gelöst	Koch'scher Kommabacillus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B. typhi abdominalis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B. pyocyaneus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gleiche Fraction (170 bis 200°), anstatt in 1 Liter Wasser, 1 ccm in 1 Liter 1 proc. Kalilauge gelöst	Koch'scher Kommabacillus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. typhi abdominalis																	

zwischen 200 bis 220° überdestillirt. 1 ccm auf 1 Liter warmen Wassers		[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B. typhi abdominalis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B. pyocyaneus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gleiche Fraction (200 bis 220°). 1 ccm in 1 Liter 1 proc. Kalilauge gelöst	Koch'scher Kommabacillus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. typhi abdominalis	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. pyocyaneus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fraction des Fichtentheers, welche zwischen 220 bis 270° destillirte, 1 pro mille wässeriger Lösung	Koch'scher Kommabacillus	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. typhi abdominalis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	B. pyocyaneus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gleiche Fractionen (220 bis 270°). 1 pro mille 1 proc. Kalilauge	Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. typhi abdominalis	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B. pyocyaneus	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 3. Vergleichende Tabelle der desinficirenden Wir

Es wurden zu 10 ccm Cultur 0.5 ccm Theer oder 10 ccm Theerlösung in Wasse
Stunden angegeben. Zeichen + be

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit	Koch'scher Kommabacillus								Darmbacterien aus eine Choleraleiche						
	Zeit in Minuten					Zeit in Std.			Zeit in Minuten					Zeit i	
	5	10	15	30	45	1	2	3	5	10	15	30	45	1	2
Theer Nr. 1. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Theer Nr. 2. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theer Nr. 3. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Theer Nr. 4. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
Theerwasser 10:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Theer Nr. 5. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—
Theerwasser 10:10	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Theer Nr. 6. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Theer Nr. 7. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Theer Nr. 8. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
Theer Nr. 9. 0.5 ccm auf 10 ccm Cultur	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Theerwasser 10:10	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
Alkalisches Theerwasser 10:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—

Tabelle 4.

Die Zeit der Abtödtung der Culturen ist bis zu $^3/_4$ Stunden in Minuten angegeben, von da ab in Stunden. Die Culturen in Bouillon wurden mit dem gleichen Volumen der desinficirenden Flüssigkeit übergossen. Zeichen + bedeutet Wachsthum, Zeichen — Abtödtung. Zeichen +* schwaches Wachsthum.

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit	Fichtentheer														
	4	8	10	12	25	30	35	45	1	2	3	4	6	12	24
1. 5 Proc. Theerwasser	Koch'scher Kommabacillus														
a) bei 80° bereitet .	+ +	+ +	+* —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
b) bei Zimmertemp.	+ +	+ +	+ +	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
2. 5 Proc. Theeremuls.	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
5 Proc. Theerwasser	Cholera Massauah														
a) bei 80° bereitet .	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
desgleichen	Typhus abdominalis														
	+ +	— +*	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
desgleichen	Staphylococcus aureus														
	+ +	+ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
desgleichen	B. pyocyaneus														
	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	— —
desgleichen	Darmbacterien aus einer Choleraleiche														
	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + —	+ + —	+ — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit	Birkentheer														
	4	8	10	12	25	30	35	45	1	2	3	4	5	6	12
5 Proc. Theerwasser	Koch'scher Kommabacillus														
a) bei Zimmert. ber.	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	+ —	+ —	+ —	— —	— —	— —	— —	
b) bei 80° bereitet .	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	
5 Proc. Theerwasser	Cholera Massauah														
bei 80° bereitet .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
desgleichen	Typhus abdominalis														
	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
desgleichen	Staphylococcus aureus														
	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
desgleichen	B. pyocyaneus														
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
desgleichen	Darmbacterien aus einer Choleraleiche														
	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	— —	— —	— —	— —

... in Minuten angeg... ...culturen von 10 ccm
wurden mit 2 ccm des Desinficiens übergossen.

	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.	M.
	2	4	6	10	25	35	45	60	120	2	4	6	10	25	35	45	60	120
Acetum pyrolignosum crudum. 2 ccm auf 10 ccm Cultur	Culturen in Bouillon von Koch'schem Kommabacillus									Culturen in Blutserum von Koch'schem Kommabacillus								
	− +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	+ +	+ −	+ −	− −	− −	− −
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche									Darmbacterien aus einer Choleraleiche								
	− +	− +	− +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −
	B. d. Typhus abdominalis									B. d. Typhus abdominalis								
	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −
	B. pyocyaneus									B. pyocyaneus								
	− +	− +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	+ +	+ −	+ −	− −	− −	− −
	B. d. Diphtherie									B. d. Diphtherie								
	− +	− +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −
Mit Soda neutralisirtes Acetum pyrolignosum. 2 ccm auf 10 ccm Bouillon oder Blutserum	Koch'scher Kommabacillus									Koch'scher Kommabacillus								
	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche									Darmbacterien aus einer Choleraleiche								
	+ +	− +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −
	B. d. Typhus abdominalis									B. d. Typhus abdominalis								
	+ +	+ −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −
	B. pyocyaneus									B. pyocyaneus								
	+ +	+ −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	− −	+ +	+ +	+ +	− −	− −	− −	− −	− −	− −

Tabelle 6. Desinficirende Wirkung verschiedener Theere, alkalis
5 proc. krystallinischen und rohen Carbolsäure auf di

Die Einwirkungszeit ist in den ersten zwei Rub

Bezeichnung der angewandten Präparate	5	16	1	2	3	4	5	6	7	8
1. Birkentheer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
2. Espentheer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−
	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
3. Fichtentheer Nr. 1	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
4. " Nr. 2	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
5. " Nr. 3	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−
6. " Nr. 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−
7. " Nr. 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8. " Nr. 6	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
9. " Nr. 7	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−
	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
10. " Nr. 8	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
11. " Nr. 9	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
Alkalische Lösungen der Fichtentheersorten.										
12. Alkalischer Theer Nr. 1 (5 g Theer, 1,0 g Kalihydrat, 100 Wasser)	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
13. Gleicher alkalischer Theer, bei 37° einwirken lassen	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
14. Alkalischer Theer Nr. 3	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
15. " " Nr. 3, bei 37° eingew.	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
16. " " Nr. 1, 45° warm auf die Sporen eingewirkt	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
17. 5 mal concentr. alkal. Theer Nr. 3	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
18. Gleich concentr. alkal. Theer Nr. 3, bei 37° einwirken lassen	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
19. Acetum pyrolig. crud.	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
20. 5 proc. Carbolsäure aus sog. 50 proc. des Handels	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21. 5 proc. Carbolsäure aus sog. 100 proc. des Handels	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22. 5 proc. Carbolsäure aus krystall. Phenol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. 5 proc. Carbolsäure aus sog. 50 Proc. in 1 Proc. Kalihydrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. 5 proc. Carbolsäure aus krystall. Phenol in 1 Proc. Kalihydrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

[1]) Die sicherste Abtödtung der Milzbrandsporen ist also durch auf 45 bis 50° erwärmte alk
Nährbouillon übertragen wurden.

Tabelle 7. Vergleichende Tabelle alkalischer Fichten- und Birkenthe

Die Zeit der Abtödtung der Culturen bis zu $^3/_4$ Stunden ist in Minuten angegeben, von da a
Die Bouillonculturen wurden mit dem gleichen Volumen der desinficirenden Flüssigke
Zeichen + gleich Wachsthum; Zeichen — gleich Abtödtung; Zeichen +• gleich schwache

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit	2	5	6	8	10	12	15	25	30	45	1	2	3	4	5
Alkalisches Theerwasser. 5 g Theer, 1.0 g Kalihydrat, 100 g Wasser. Bereitet bei 80°. Angewendet bei Zimmertemperatur.	Alkalische Fichtentheerlösung von 3 verschiedene														
	Koch'scher Kommabacillus														
	+ + +	+ — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	Cholera Massauah														
	+ + +	+ + —	+ + —	— +• —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche														
	+ + +	+ + —	+ + —	+ + —	+ + —	+ + —	+ + —	+• +• —	+• — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	Typhus abdominalis														
	+ + +	+ + —	+• + —	— +• —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	B. pyocyaneus														
	+ + +	+ + —	+ + —	+ + —	+• + —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	Staphylococcus aureus														
	+ + +	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —
	Alkalische Birkentheerlösung von 2 verschiedenen														
	Koch'scher Kommabacillus														
Desgleichen.	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + — —	— + — —	— + — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
	Cholera Massauah														
	+ +	+ +	+ +	— +	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
	Darmbacterien aus einer Choleraleiche														
	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	+ —	— —	— —	— —
	Typhus abdominalis														
	+ +	— +	— +	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
	B. pyocyaneus														
	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
	Staphylococcus aureus														
	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	— +	— +	— —	— —	— —	— —	— —

+* gleich schwaches Wachsthum.

Bezeichnung der desinficirenden Flüssigkeit	2	5	10	12	15	20	30	45	1	2	3	4	5	6	7
1. Theerkalkmilch. Auf 100 Wasser 5 g Theer und 2 g Kalk.						Koch'scher Kommabacillus									
	+	+*	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
						Cholera Massauah									
	+	+	+	+	+	+	+	+*	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
						Typhus abdominalis									
	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2. Auf 100 Wasser 5 g Theer und 5 g Kalk.						Koch'scher Kommabacillus									
	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
						Cholera Massauah									
	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
						Typhus abdominalis									
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	

Fichtentheer in ammoniakalischer Lösung — 5 g Theer auf 100 ccm 5 proc. Ammon tödtet die Koch'schen Kommabacillen innerhalb 5 Minuten, in Mischcultur mit Darmbacterien innerhalb 30 bis 40 Minuten. Birkentheer bei gleicher Concentration in ammoniakalischer Lösung tödtet die Cholerabacterien zwischen 30 bis 40 Minuten, in Mischculturen erst in einigen Stunden.

Tabelle 12. Entwickelungshemmende Versuche mit alkalischem Theer auf Bouillon und Blutserum.

Bezeichnung der Bacterienarten	Die Beobachtungszeit ist in Tagen angegeben																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1. Mit alkalischem Fichtentheer (5 g Theer, 1.0 g KHO auf 100 Wasser)																	
	Auf 10 ccm Bouillon 1 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 1 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
3. B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	Auf 10 ccm Bouillon 2 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 2 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2. Mit alkalischem Espentheer (5 g Theer, 1.0 g KHO auf 100 Wasser)																	
	Auf 10 ccm Bouillon 1 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 1 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
3. B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	Auf 10 ccm Bouillon 2 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 2 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3. Mit alkalischem Birkentheer (5 g Theer, 1.0 g KHO auf 100 Wasser)																	
	Auf 10 ccm Bouillon 1 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 1 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. B. pyocyaneus	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Auf 10 ccm Bouillon 2 ccm alkal. Lösung									Auf 10 ccm Blutserum 2 ccm alkal. Lösung								
1. Koch'scher Kommabacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Darmbacterien aus Choleraleiche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
3. B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bezeichnung der Bacterienart	Die Beobachtungszeit ist in Tagen angegeben																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	1 ccm (= 0.054 g Säure) auf 10 ccm Bouillon										1 ccm auf 10 ccm Blutserum									
1. Koch'scher Kommabacillus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2. B. typhi abdom.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+
3. Darmbacterien aus einer Choleraleiche	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4. B. pyocyaneus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5. M. prodigiosus	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6. Staphyl. aureus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7. M. tetragenus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	2 ccm (= 0.108 g Säure) auf 10 ccm Bouillon										2 ccm auf 10 ccm Blutserum									
[illegible] Koch'scher Kommabacillus	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible] B. typhi abdom.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible] aus einer Cho-[illegible]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
[illegible]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Ueber Verbindungen der Pikrinsäure mit Phenolen und Ketonen

von

R. Goedike.

Ber. 26, 3042. — Arch. des sciences biol. 2, 423. — Nach dem Referate von Prof. R. Sachsse abgedruckt Chem. Centralbl. 65, I, 323.

Verf. hat diese Verbindungen auf Veranlassung von Prof. Nencki dargestellt, indem er auf die Lösung des Phenols in wenig 50 proc. Alkohol eine warme gesättigte Lösung von Pikrinsäure ebenfalls in 50 proc. Alkohol einwirken liess. Es ist dabe gut, etwas mehr Phenol anzuwenden, als nach dem Molekulargewichte verlangt wird. Man verdampft den Alkohol bei 30 bis 50°, bis die Flüssigkeit sich zu trüben anfängt und lässt dann erkalten. Die Krystalle werden mit etwas Alkohol ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Bei 100° erfolgt bereits Zersetzung, sogar zuweilen selbst bei längerem Stehen über Schwefelsäure, namentlich bei den Verbindungen der flüchtigen Phenole.

Phenolpikrat, $C_6H_5OH . 2 (C_6H_2[NO_2]_3OH)$, hellgelbe Nadeln, die bei 53° schmelzen.

o-Kresolpikrat, $2 (C_6H_4 . CH_3 . OH) 3 (C_6H_2[NO_2]_3OH)$. Von den drei isomeren Kresolen bildet nur das o-Kresol ein Pikrat. Dasselbe krystallisirt in orangegelben Nadeln, die bei 88° schmelzen.

o-Xylenolpikrat, $5 (C_6H_3[CH_3]_2OH) . 4 (C_6H_2[NO_2]_3OH)$. Die Krystalle sind orange und schmelzen bei 82°.

Brenzcatechinpikrat, $C_6H_4(OH)_2—C_6H_2(NO_2)_3OH$. Die orange gefärbten Nadeln schmelzen bei 122°.

Guajacolpikrat, $C_6H_4 . OCH_3OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$. Obwohl das Guajacol in Wasser beinahe unlöslich ist, so kann man doch das Pikrat in wässeriger Lösung darstellen, wenn man Guajacol mit Wasser schüttelt und eine bei 100° gesättigte Pikrinsäurelösung zusetzt. Beim Erkalten krystallisiren orangerothe Nadeln, die bei 86° schmelzen.

Kreosolpikrat, $C_6H_3 . CH_3 . OCH_3 . OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$, bildet gelbe Nadeln, die bei 96° schmelzen.

Aethylguajacolpikrat, $C_6H_3 . C_2H_5 . OCH_3 . OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$, orangegelbe Nadeln. Schmelzpunkt 90°.

Propylguajacolpikrat, $C_6H_3 . C_3H_7 . OCH_3 . OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$, rothe Nadeln. Schmelzpunkt 59°.

Die Trioxybenzole Pyrogallol und Phloroglucin gaben keine Pikrate.

Dimethylpyrogallolpikrat, $C_6H_3(OCH_3)_2OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$, bildet gelbe Nadeln, die bei 53° schmelzen.

Nicht nur Phenole, sondern auch die halogensubstituirten Derivate derselben und Ketone bilden Pikrate. Verf. hat dargestellt: o-Chlorphenolpikrat, $C_6H_4Cl.OH—C_6H_2(NO_2)_3OH$, in hellgelben Nadeln, die bei 81 bis 82° schmelzen. Acetophenonpikrat, $C_6H_5COCH_3—C_6H_2(NO_2)_3OH$, bildet grünlichgelbe, aromatisch riechende, quadratische Krystalle, welche bei 53° schmelzen. Gallacetophenonpikrat, $2(C_6H_2[OH]_3COCH_3)—C_6H_2(NO_2)_3OH$, orange gefärbte Nadeln, welche bei 133° schmelzen.

Beiträge zur pharmakologischen und therapeutischen Wirkung der Wismuth-Phenolverbindungen

von

F. Jasieński.

Arch. des sciences biolog. **2**, 247. — Nach dem Referate von Dr. H. Dreser abgedruckt. Schmidt's Jahrbücher **243**, 135.

Die Verbindungen, welche Verf. durch Vermischen einer Lösung von Wismuthnitrat mit den Phenolverbindungen der Alkalien als graubraune oder gelbe, wasserunlösliche Verbindungen erhielt, besassen folgende Zusammensetzung:

Phenolwismuth, $(C_6H_5O)_2BiOH + Bi_2O_3$.

Tribromphenolwismuth, $(C_6H_2Br_3O)_2BiOH + Bi_2O_3$ (wurde pharmakologisch nicht untersucht).

Metakresolwismuth, $(C_6H_4.CH_3.O)_3Bi + 3Bi_2O_3$.

β-Naphtolwismuth, $(C_{10}H_7O)_3Bi + 3Bi_2O_3$.

Diese Verbindungen zeigten folgendes pharmakologische Verhalten:

1. Nach der Einführung in den Magen werden sie unter dem Einflusse des Magensaftes und im Dünndarm durch den Pankreas und Darmsaft zerlegt in die entsprechenden Phenole einerseits und Wismuthoxyd andererseits. 2. Das Phenol und das Kresol werden vollständig resorbirt und als Aetherschwefelsäuren oder gepaarte Glycuronsäuren ausgeschieden. Das Naphtol wird zum Theil resorbirt und geht in den Harn über, der andere Theil wird mit den Fäces entfernt. 3. Die grössere Acidität des Hundemagensaftes bewirkt die Resorption einer kleinen Menge Wismuth, welches im Harn wieder erscheint; die Hauptmenge geht aber doch mit dem Koth ab. 4. Trotz der toxischen Eigenschaften der Phenole hatte die dreiwöchige Aufnahme von je 5 g des Wismuthphenols, -kresols oder -naphtols beim Menschen und von je 10 g bei Hunden pro Tag keinerlei nachtheiligen Einfluss auf die Gesundheit, woran offenbar nur die ganz allmählich erfolgende Zerlegung der Phenolverbindungen im Darm schuld war, so dass eine Ueberladung des Blutes mit circulirenden Phenolen unmöglich war.

In der Klinik des Prof. Pasternatzki wurden die Verbindungen i[illegible] n Gaben von 1 bis 3 g per os und von 2 g als Klysma mit gutem Erfolge

katarrhalische Zustände des Darmcanals gegeben. Die Heilung erfolgte in zwei bis fünf Tagen. Auch gegen die entsprechenden chronischen, sehr hartnäckigen Zustände waren bei consequenter Anwendung der Wismuthverbindungen meist günstige Heilerfolge zu verzeichnen; desgleichen nach den Diarrhoeen bei einem Kranken mit Lebercirrhose und bei einem an Magenkrebs leidenden bewirkte in Verbindung mit Magenausspülung, welche letztere allein nicht so günstig wirkte, die Eingabe von 0.5 bis 2 g Phenolwismuth täglich wesentliche Erleichterung.

Ueber die desinficirende Wirkung der drei isomeren Chlorphenole, ihrer Salicylsäureester und ihr Verhalten im Organismus

von

G. Karpow.

Inaug.-Dissert. Dorpat. — Arch. des sciences biol. 2, 305. — Gazeta Lekarska Nr. 34 u. 35 (1893). — Nach dem Referate von Dr. B. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. 65, I, 515.

Die Untersuchungen von C. O. Cech [1]) und W. Dianin [2]) haben gezeigt, dass das Gemenge von Phenol mit Chlorkalk sehr starke antiseptische Eigenschaften besitzt; später erfuhr man, dass die bacterienfeindliche Wirkung dieses Gemisches den dabei gebildeten Chlorderivaten des Phenols zukomme. Nachdem nun die Monochlorphenole technisch für antiseptische Zwecke dargestellt werden, hat Verf. es unternommen, deren Desinfectionswerth zu ermitteln. Besonders in Betracht kommen das o-Chlorphenol (Schmelzp. 7°, Siedep. 175 bis 176°) und das m-Chlorphenol (Schmelzp. 28.5°, Siedep. 214°). Wie das Phenol, so coaguliren auch diese Derivate Eiweiss, aber nicht so vollständig wie jenes. Blutserum, Eiweiss und Milch liefern auf Zusatz der Chlorphenole nur eine Trübung und wenig Flocken, die sich — bei alkalischer Reaction der Flüssigkeit — wieder im Ueberschuss der Chlorphenole lösen. Bei Gegenwart von Säuren geben letztere reichliche Niederschläge. Bereits 0.03 g der beiden Verbindungen vermochten die Fleischfäulniss 12 Tage, 0.1 g 25 Tage aufzuhalten und bei 0.15 g trat Fäulniss überhaupt nicht mehr ein. Zu den Desinfectionsversuchen verwandte Verf. Milzbrandsporen, welche von einer 5proc. Carbolsäure noch nicht in 20 Tagen abgetödtet wurden. Die Chlorderivate des Phenols wirkten stärker, und zwar war die p-Verbindung (Schmelzp. 37°, Siedep. 217°) den m- und o-Verbindungen überlegen. Eine 2proc. Lösung des p-Chlorphenols vernichtete die Milzbrandsporen bereits nach zwei Stunden, während die Vernichtung beim o-Chlorphenol erst am vierten Tage, beim m-Chlorphenol nach 10 Stunden eintrat.

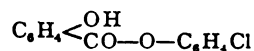
---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **22**, 345.

[2]) Ber. **13**, 2403.

Die Dosis letalis bei subcutaner Injection (am Kaninchen ausgeführt) beträgt für das Chlorphenol 1.08 g pro Kilogramm Körpergewicht, für das p-Chlorphenol 0.95 g. Bei beiden Verbindungen trat der Tod unter den gleichen Erscheinungen ein. Das o- und p-Chlorphenol (Versuche beim Hunde) wird zum grössten Theil durch den Harn als Sulfosäure ausgeschieden, vielleicht auch vereinigt mit Glycuronsäure. Da der Harn an der Luft schwarz wird, ist es auch wahrscheinlich, dass ein Theil des Chlorphenols — analog dem Phenol — im Organismus zu einem Hydrochinon, resp. Brenzcatechin umgewandelt wird. Um im Harne resorbirte Chlorphenole nachzuweisen, verwendet man die Antheile, welche mit Eisenchlorid die bekannte Reaction liefern. Sie werden mit Salzsäure angesäuert und destillirt. Behandelt man das Destillat mit Brom, so erhält man einen Niederschlag, welcher das Chlordibromphenol vorstellt. Dieser Niederschlag kann behufs quantitativer Bestimmung der resorbirten Phenolderivate gewogen werden.

Die Salicylsäureester der Chlorphenole, die Chlorsalole,

$$C_6H_4{<}^{OH}_{CO-O-C_6H_4Cl}$$

besitzen stärkere antiseptische Eigenschaften als das Salol selbst; ihre Wirkung beruht auf dem leichten Zerfall in ihre Componenten. Das Salol des o-Chlorphenols schmilzt bei 53°, der p-Verbindung bei 71°. Die Zersetzung in Salicylsäure und Chlorphenole geht auch im Organismus von statten, und man kann sowohl im Harn die Resorption der letzteren nach der beschriebenen Methode, als auch die Gegenwart der Salicylsäure nachweisen. Versuche, die Verf. an sich selbst und an Hunden angestellt hat, zeigten, dass per os genommen bei Dosen von 3 g pro Tag Vergiftungserscheinungen nicht auftraten.

Behandlung des Erysipels durch Chlor- und Bromphenole

von

J. Tschurilow.

Arch. des sciences biolog. **2**, 329. — Nach dem Referate von Dr. H. Dreser abgedruckt. Schmidt's Jahrbuch **242**, 238.

Verf. machte von den antiseptischen Eigenschaften der Chlor- und Bromphenole klinische Anwendung, indem er bei Erysipelaskranken Vaselinsalben in die erkrankten Hautpartien einrieb, welche 1 bis 3 Proc. dieser Desinficientien enthielten. Bekanntlich sind die Erysipelcoccen nur wenig widerstandsfähig gegen Antiseptica. Unter dieser Behandlung verging das Erysipel bei sechs Kranken am zweiten Tage, zwei davon hatten Temperaturen bis 40.5°; bei acht Kranken am dritten Tage. Die längste Behandlungsdauer betrug acht Tage bei zwei Kranken mit bullösem Ausschlag im Gesicht und am Kopf und mit allgemeiner Schwäche.

In Zukunft beabsichtigt Verf. subcutane Injectionen von 1 proc. wässerigen Lösungen von Parachlorphenol zu benutzen, welche nach Versuchen ar [illegible] selbst weder örtliche, noch allgemeine schädliche Wirkungen haben.

Bemerkungen über die Berkefeld'schen Hausfilter

von

S. Dzierzgowski.

Gazeta Lekarska Nr. 17 (1893). — Врачъ Nr. 9 (1893). — Nach dem Referate von Prof. O. Bujwid abgedruckt. Baumgarten's Jahresbericht **9**, 694.

Verf. hat Untersuchungen über die Berkefeld'schen Hausfilter mit verschiedenen Bacterienarten im Petersburger Leitungswasser angestellt. Cholerabacillen, Bac. pyocyaneus, Bac. prodigiosus, Mäuseseptikämiebacillen vermögen nicht die Poren des Filters zu passiren, selbst bei grösserem Druck. Wann die Bacterien durch die Wand durchwachsen, theilt der Verf. nicht mit; nach ihm vermag auch die Dicke der Wand, welche fünf- bis sechsmal stärker ist als bei den Chamberland'schen Filtern, längere Zeit das Durchwachsen hintanzuhalten. Die mechanische Reinigung und die Sterilisation des Filters sei nur dann nothwendig, wenn das Filter wenig Wasser durchlässt. Am besten geschieht die Reinigung mittelst des Kochens in 2 proc. Natronlauge während einer Stunde.

Beiträge zur Aetiologie der Cholera

von

A. Blachstein und **J. Zumft.**

Arch. des sciences biol. **2**, 95.

Verff. geben eine genauere Beschreibung der Bacterien, welche sie ausser Kommabacillen in den Excrementen Cholerakranker gefunden haben. Reinculturen dieser Bacterien erwiesen sich in der Mischung mit Cholerabacillen als sehr giftig für Thiere. Ueber diese Versuche wurde von Prof. Nencki in der Gesellschaft russischer Aerzte mitgetheilt (dieser Band S. 343). Die Arbeit der Herren Blachstein und Zumft wurde mit einem Zusatz von Prof. Nencki befolgt; den letzteren lassen wir ausführlich abdrucken.

Note au sujet du mémoire de MM. Blachstein et Zumft

par

M. Nencki.

Arch. des sciences biolog. 2, 115.

Les résultats des recherches de MM. Blachstein et Zumft ainsi que de celles de MM. Lesage et Macaigne, dont le mémoire paru tout récemment [1]) font voir que, dans le choléra, outre le B. virgule de Koch, il faut encore tenir compte d'autres microorganismes que l'on trouve dans les matières fécales des malades. MM. Lesage et Macaigne, qui ont étudié au point de vue bactériologique les selles de 201 cholériques sur 251 personnes atteintes du choléra et soignées à l'hôpital Saint-Antoine à Paris, n'ont jamais observé le bacille virgule en culture pure dans les matières fécales. Dans beaucoup de cas ce microbe y existait en grande quantité, mais toujours avec lui on notait la présence d'autres microbes. Malheureusement ces derniers auteurs ne donnent pas de discription détaillée de la bactérie qu'ils désignent sous le nom Bacterium coli commune. On sait que cette dénomination ne s'applique pas à une expèce parfaitement déterminée, mais plutôt à tout un groupe de microorganismes; aussi, est-il possible que le Bacterium coli commune de ces auteurs soit identique au bacille α de MM. Blachstein et Zumft. D'un autre côté, il serait très intéressant au point de vue étiologique de faire, à l'approche d'une épidémie cholérique, des études bactériologiques des excréments des personnes atteintes de légères affections du canal intestinal, se terminant par la guérison; il est fort possible que, même dans ces cas, on rencontre le bacille virgule de Koch bien plus souvent qu'on ne l'a cru jusqu'à présent. De nombreuses expériences faites par divers observateurs et en diverses localités peuvent seules répondre à cette question. Les expériences de MM. Blachstein et Zumft ont démontré que les bacilles de Koch, injectés par la voie sous-cutanée, ne peuvent pas tuer les animaux: je considère ce fait comme très caractéristique pour le bacille de Koch. Dans les dernières expériences de M. Zumft, les B. virgules se sont parfaitement développés dans des décoctions alcalinisées de chou-fleur, de concombre, de pomme de terre et de poumon de bêtes bovines; mais leur virulence n'a pas augmenté pour cela.

M-me le Dr. N. Sieber qui a étudié une culture virulente du choléra de Massaouah, qui m'a été gracieusement envoyée par M-r le D-r Gamaléia, est arrivée aux conclusions suivantes.

Dans le bouillon et la gélatine, ces bacilles se développent bien plus vite que les bacilles de Koch; soit que ces derniers proviennent de vieilles cultures, soit des cultures récentes obtenues par nous, pendant la dernière épidemie de choléra à Bakou et à Saint-Pétersbourg. A la température de 37^0, le bouillon se trouble fortement au bout de 6 heures; le trouble et le dépôt sont beaucoup plus considérables que

[1]) Annales de l'Institut Pasteur 7, 18 (1893).

dans les cultures du choléra asiatique, mais la pellicule de la surface est moins développée; dans les cultures par piqûre sur gélatine, à la température de la chambre, on distingue déjà au bout de 16 heures une certaine croissance: la gélatine est liquéfiée plus tôt et plus vite que dans les cultures des bacilles de Koch. La réaction de M. Bujwid donne, dans les cultures de ces derniers bacilles, une franche coloration rouge qui disparait après deux heures, tandis que, dans les cultures de Massaouah, ainsi que dans les cultures du vibrio Metschnikovi, elle donne une faible coloration rouge-jaunâtre persistant pendant quelques jours. Les cultures de Massaouah âgées de quatre jours, en bouillon et sur gélatine, ainsi que les cultures du choléra asiatique ont une forte réaction alcaline; mais après 3—4 semaines, les cultures de Massaouah sur gélatine deviennent neutres et même franchement acides; fait que l'on n'observe jamais dans les cultures du choléra asiatique.

Nous avons ensemencé sur plaques de gélatine les cultures sur gélose que nous avons reçues de M. le D-r Gamaléia. La majeure partie des colonies qui se sont développées sur ces plaques liquéfiaient rapidement la gélatine; quelques unes la liquéfiaient plus lentement; mais il n'y eut que très peu de colonies ne liquéfiant pas la gélatine. Ces dernières étaient probablement composées des microorganismes que la culture contenait accidentellement. L'examen microscopique nous a fait voir que les colonies liquéfiant la gélatine étaient composées de bacilles fins, légèrement courbés; ceux qui liquéfiaient moins bien la gélatine avaient la forme de virgules, étaient un peu plus petits que les bacilles de Koch et rappelaient plutôt le vibrio Metschnikovi. Les colonies ne liquéfiant pas la gélatine se composaient de coccus non virulents.

La culture originale de M. le D-r Gamaléia était très virulente. Les lapins, il est vrai, résistaient; mais les cobayes et les pigeons qui avaient reçu des injections sous-cutanées de 1—2 ccm succombaient en 6—8 heures, après un fort abaissement de la température. A l'autopsie, on constata l'hyperhémie de l'intestin grêle, un exsudat séreux dans la cavité péritonéale, l'hyperhémie du foie dont la couleur était devenue foncée et en outre, la pâleur de la rate. Le sang et tous les organes internes contenaient de nombreux vibrions mobiles, plus fins et plus longs que ceux que l'on avait injectés: nous en avons obtenu des cultures. Les cultures en bouillon obtenues avec le sang des animaux qui avaient succombé, tenues 10 jours à 38°, ont été ensuite filtrées par une bougie Kitasato. Le liquide filtré à été injecté, à la dose de 5 ccm, à deux cobayes adultes: à l'un dans la cavité péritonéale et à l'autre sous la peau. Bientôt après l'injection, les deux animaux présentèrent les symptômes d'une forte affection: le premier cobaye resta pendant près de trois heures dans un état comateux. Le lendemain, ils se remirent; mais, par la suite, ils commencèrent à maigrir, et le premier cobaye qui avait reçu l'injection dans la cavité péritonéale succomba le 32-ème jour après avoir perdu en poids 137 g. Le second succomba le 38-ème jour après avoir perdu 163 g en poids. La virulence de ces microbes reste constante même après plusieurs passages sur milieux artificiels.

Les propriétés morphologiques et biologiques des bactéries de Massaouah s'opposent à leur identification au bacille de Koch. Il est évident, pour chaque

spécialiste impartial, que ces propriétés rappelent plutôt le Vibrio Metschnikovi. Le degré de virulence de la culture de Massaouah ainsi que les différences morphologiques que nous trouvons entre cette bactérie et le B. virgule de Koch ne nous permettent pas de considérer ces microorganismes comme identiques. En tout cas, ces differences sont plus tranchées que celles qui ont autorisé M. Cunningham à admettre plusieurs espèces de bacilles virgules du choléra, différences que M. le D-r Friedrich[1]) ne reconnait pas suffisantes pour établir des nouvelles espèces de microbes. Je ne puis pas affirmer que les microbes de Massaouah ne provoquent pas le choléra chez l'homme; quoique, d'autre part, dans toutes les épidémies de choléra asiatique bien étudiées, on a toujours trouvé le bacille virgule de Koch et non le Vibrio Metschnikovi. Les études de ces dernières années sur les streptococcus, sur le Bacterium coli commune, les microbes de la nitrification[2]) et autres ont démontré que des espèces très proches par leur propriétés morphologiques et biologiques conservent néanmoins rigoureusement leurs caractéres spécifiques.

Vergleichende bacteriologisch-chemische Studien über die Beziehung des Bacillus der Cholera Massauah zum Vibrio Metschnikovi und zum Koch'schen Kommabacillus

von

S. Rontaler.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Gazeta Lekarska (1894) Nr. 19 bis 22. — Nach dem Referate von Dr. A. Samojlow abgedruckt. Maly's Jahresber. 23, 650.

Verf. untersuchte die seitens der aufgezählten Bacterienarten bewirkten Zersetzungsproducte des Eiweisses und Zuckers, um auf dem Wege der chemischen Analyse eine nähere Differenzirung der betreffenden Mikroorganismen zu erzielen. Zum Studium der Eiweisszersetzungsproducte dienten eine 2 proc. Peptonlösung (Pept. sicc. Witte), die durch Sodazusatz stark alkalisch gemacht wurde, dann ein aus Ochsenlungen bereiteter (500 g Ochsenlungen auf 2 Liter H_2O), schon an sich alkalisch reagirender Nährboden und ausserdem wurden noch Blut- und Eiereiweiss enthaltende Nährböden (5 Proc.) benutzt. Die Nährbouillons wurden in 2 Liter fassende Kolben hineingethan, sterilisirt und nach vorherigem Abkül

---

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 8, 87 (1892).

[2]) N. Sieber, Recherches sur les streptococcus pathogènes. Archi biologiques 1, 265. — Dieser Band S. 336.

Blachstein, Contribution à la biologie du bacille typhique. giques 1, 199 et 299. — Dieser Band S. 335.

S. Winogradsky, Contributions à la morphologie des org Arch. des sciences biol. 1, 87.

5 ccm der betreffenden reinen Bouilloncultur geimpft. Zu vergleichenden Studien dienten sowohl aërobe als auch anaërobe Culturen, wobei für die letzteren die aus Lungen bereitete Bouillon verwendet wurde. Die Anaërobiose wurde nach der von Nencki angegebenen Methode durch Vertreiben der Luft vermittelst CO_2 erzielt; es stellte sich hierbei heraus, dass die CO_2 keinen schädlichen Einfluss auf das Wachsthum dieser Bacterien ausübt. Die Untersuchung der Eiweisszersetzungsproducte wurde nach Nencki vorgenommen und begann immer erst dann, wenn die Reinheit der gegebenen Cultur im Kolben durch das Mikroskop und durch Impfungen auf Thiere und auf Nährböden (Gelatine u. s. w.) erwiesen werden konnte. Nach Zusatz von Oxalsäure (1 Proc. krystallin. Oxalsäure auf 2.0 Eiweiss) wurden die flüchtigen Substanzen abdestillirt, im opalescirenden Destillate die Fettsäuren in Natronsalze übergeführt und durch abermalige Destillation getrennt; durch Ueberführen der fettsauren Natronsalze des Rückstandes in Ag-Salze bestimmte man später die Fettsäuren, während im Destillate, das einen Skatol- und Indolgeruch entwickelte, diese beiden Substanzen nachgewiesen wurden. Der ursprüngliche Rückstand wurde mit Aether extrahirt und im Extracte die Reactionen auf Phenylpropionsäure, Skatolessigsäure und Oxysäuren vorgenommen. A. Bacillus der Cholera Massauah. Man arbeitete mit zwei Culturen. Die eine stammte von Dr. Gamaleja, die andere von Prof. Vincenzi; beide ergaben gleiche Resultate. Die bei Anwendung verschiedener Eiweissarten erzielten Resultate waren ebenfalls identisch. a) Producte der aëroben Culturen: Indol, Skatol, Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Spuren von Oxysäuren. b) Producte der anaëroben Culturen: Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren und eine nichtflüchtige Fettsäure höherer Ordnung. Sowohl in a) als auch in b) konnte man vermittelst Silber eine und dieselbe Fettsäure, nämlich Essigsäure nachweisen; es wurden im Silbersalz 64.23, 64.16, 64.6, 64.59, 64.45 und 64.28 Proc. Ag gefunden, die Formel CH_3COOAg fordert 64.67 Proc. Ag. B. Vibrio Metschnikovi. Verschiedene Eiweissarten weisen identische Resultate auf. a) aërobe Culturen: Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Spuren von Oxysäuren; b) anaërobe Culturen: Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren und eine nicht flüchtige Fettsäure höherer Ordnung. In den Silbersalzen von a) und b) waren 55.45, 55.48 und 55.39 Proc. Ag enthalten, man hatte es also mit Buttersäure zu thun (C_3H_7COOAg fordert 55.38 Proc. Ag). C. Koch'scher Kommabacillus. Zwei verschiedene Culturen, die eine von Dr. Blachstein, die andere von Prof. Koch, ergaben mit verschiedenen Eiweissarten identische Resultate. a) Aërobe Culturen: Indol, Skatol, Fettsäuren in sehr geringer Menge, Phenylpropionsäure und Spuren von Oxysäuren; b) anaërobe Culturen: Indol, Skatol, Fettsäuren in sehr geringer Menge und eine nicht flüchtige Fettsäure. Die Lebensfähigkeit der sämmtlichen Culturen wurde immer durch Impfungen auf Thiere nachgeprüft. Zur Untersuchung der Zuckerzersetzung diente folgender Nährboden: 2 Proc. Pepton sicc. Witte, 5 Proc. chemisch reiner Traubenzucker und 3 Proc. kohlensaurer Kalk. Die Stoffwechselproducte wurden nach der Methode von Nencki untersucht. A. Bacillus der Cholera Massauah. Die Culturen von Gamaleja und Vincenzi ergaben in aëroben und anaëroben Nährböden gleiche Resultate. Als Zersetzungsproducte wurden Fettsäuren und Milchsäure nachgewiesen. Was die ersteren anbetrifft, so ergab die Analyse 62.58, 60.1,

60.19, 60.6 Proc. Ag, was auf ein Gemisch von Essigsäure und Buttersäure hinweist Die Untersuchung des milchsauren Zinks ergab:

Verlust an Krystallwasser in Proc.

18.04	17.41	17.11	17.36	18.11	18.02

Gehalt an ZnO in Proc.

27.39	27.28	27.66	27.54	27.36	27.65

Ganz in Uebereinstimmung hiermit erwies sich in allen Fällen die Milchsäure im Polarisationsapparate als inactiv. B. Vibrio Metschnikovi: Die Analyse ergab ein Gemisch von Essigsäure und Buttersäure. Milchsäure war kein einziges Mal vorhanden. C. Koch'scher Kommabacillus: Spuren von Fettsäuren und Milchsäure. Der negative Befund bezüglich der Drehung der Polarisationsebene und die nähere Prüfung der Eigenschaften des Zn-Salzes führte zum Schluss, dass man es mit inactiver Milchsäure zu thun hatte. Die Lebensfähigkeit der betreffenden Culturen wurde durch Impfung auf Thiere und auf Nährböden bewiesen. Es kann somit zur differentiellen Diagnostik der in Rede stehenden Bacillen folgende Tabelle aufgestellt werden:

	Bacillus Cholera Massauah	Vibrio Metschnikovi	Koch'scher Kommabacillus
I. Zersetzungsproducte des Eiweisses	Indol und Skatol in relativ grösseren Quantitäten als beim Koch'schen Bacillus und in noch viel grösseren als beim Vibr. Metschnikovi.	Indol und Skatol in kleineren Quantitäten als beim Koch'schen Bacillus und noch viel kleineren als beim Bac. Cholera Massauah.	Indol und Skatol in kleinerer Quantität als beim Bacillus Chol. Mass., aber in grösseren Quantitäten als beim Vibrio Metschnikovi.
	Essigsäure	Buttersäure	Spuren der Fettsäuren
II. Zersetzungsproducte des Zuckers	Optisch inactive Milchsäure	Es bildet sich keine Milchsäure. Als Zersetzungsproducte des Zuckers treten grössere Quantitäten von Fettsäuren auf	Optisch inactive Milchsäure

Aus der Tabelle ist zu ersehen, dass der Bacillus Cholera Massauah und der Koch'sche Bacillus in naher Beziehung zu einander stehen; was aber den Bacillus avicidus anbetrifft, so hat er weder mit dem Kommabacillus von Koch, noch mit dem Bacillus Cholera Massauah etwas Gemeinschaftliches.

Zur Aetiologie der Cystitis

von

R. Wreden.

Arch. des sciences biol. **2**, 731. — Inaug-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Dr. H. Müller abgedruckt. Centralbl. med. Wissensch. **32**, 870.

Bezüglich der Frage, wie die eine Cystitis erzeugenden Bacterien in denjenigen Fällen in die Blase gelangen, wo weder eine Infection von der Harnröhre, noch von den Nieren aus anzunehmen ist und im Urin Darmbacterien nachgewiesen sind, erschien es dem Verf. nicht unwahrscheinlich, dass der Transport dieser letzteren direct vom Rectum her auf dem Wege der Lymphgefässe vor sich gehe. Die Versuche, welche er bei männlichen Kaninchen anstellte, sprachen durchaus für diese Annahme. Wurden den Thieren an der Mastdarmschleimhaut in der Höhe der Prostata und des Blasengrundes kleine Erosionen beigebracht, so liessen sich regelmässig am nächsten Tage aus dem trüben Urin Reinculturen von Bacterium coli commune gewinnen. Brachte man nach der Verletzung Culturen des Proteus Hauseri oder des Bacillus mesentericus vulgaris in das Rectum, so fanden sich diese Pilze und nach Einführung mit Vaselin bestrichener Tampons auch kleine Fetttröpfchen im Harn. Verletzungen des Anus hatten dagegen auf die Blase gar keinen Einfluss. Da nun beim Menschen kleine Läsionen der Mastdarmschleimhaut bei inneren Hämorrhoiden, bei Prostatahypertrophie, Abscessen u. s. w. nicht selten sind, ist diese Entstehungsart einer Cystitis sehr plausibel.

1894

Synthesen hydroxylirter aromatischer Basen

von

M. Nencki.

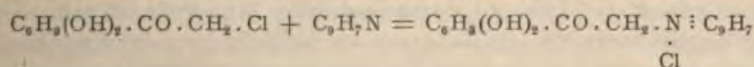
Ber. **27**, 1969. — Eingegangen am 10. Juli.

Die von mir und Dr. Dzierzgowski[1]) aus den halogensubstituirten Fettsäuren und Pyrogallol, resp. Brenzcatechin erhaltenen Oxyketone reagiren glatt mit Aminen unter Bildung basischer Producte, von denen schon eine Reihe dargestellt und beschrieben wurde. Nachträglich will ich noch über einige hierher gehörige Chinolinderivate berichten, da sie wegen ihres chemischen Verhaltens einiges Interesse beanspruchen.

Durch Einwirkung des Chloracetopyrogallols resp. des Chloracetobrenzcatechins auf Chinolin wurden schon von Dzierzgowski[2]) die Chloride der quaternären Basen $C_6H_2(OH)_3 . CO . CH_2 . \underset{\dot{Cl}}{N} \vdots C_9H_7$ und $C_6H_3(OH)_2 . COCH_2 . \underset{\dot{Cl}}{N} : C_9H_7$ erhalten.

Gegen Alkalien erwiesen sich die beiden Chloride als höchst unbeständig, Alkalicarbonate zerlegen sie beim Kochen unter Abspaltung von Chinolin, Aetzalkalien bewirken diese Zerlegung schon in der Kälte. Werden diese Chloride in concentrirter Schwefelsäure in der Kälte gelöst, so entweicht keine Salzsäure, sondern es bildet sich schwefelsaures Chinolin und das Chloroxyketon wird regenerirt.

Ganz anders verhalten sich die entsprechenden Derivate des Isochinolins. Aus Chloracetobrenzcatechin und Isochinolin erhält man das Chlorid der quaternären Base, wenn Isochinolin mit etwa dem gleichen Volumen absoluten Alkohols verdünnt, mit der äquivalenten Menge des gechlorten Ketons versetzt und auf dem Wasserbade kurze Zeit erwärmt wird. Die Reaction, welche glatt im Sinne der Gleichung:

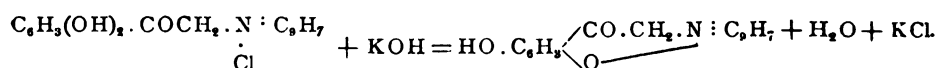
$$C_6H_3(OH)_2 . CO . CH_2 . Cl + C_9H_7N = C_6H_3(OH)_2 . CO . CH_2 . \underset{\dot{Cl}}{N} \vdots C_9H_7$$

[1]) Dieser Band S. 355 und 367.

[2]) Ebenda S. 369.

verläuft, ist ziemlich heftig und die Flüssigkeit erstarrt nach vollendeter Einwirkung zu einem Krystallbrei des Chlorids. Nach dem Erkalten wird das Chlorid mit Alkohol, worin es nur wenig löslich ist, durchgeschüttelt, auf ein Filter gebracht und mit Alkohol gewaschen, hierauf aus heissem Wasser oder verdünntem Alkohol umkrystallisirt. In reinem Zustande ist das Chlorid schneeweiss, und an der Luft getrocknet enthält es ein halbes Molekül Krystallwasser, das es, bei 110 bis 115° getrocknet, vollständig verliert. Das getrocknete Salz ergab bei der Analyse: C 64.34 Proc., H 4.46 Proc. und Cl 11.2 Proc. Die Formel $C_{17}H_{14}O_3NCl$ verlangt C 64.34 Proc., H 4.43 Proc., N 4.43 Proc. und Cl 11.25 Proc.

Wird dieses Salz in stark verdünnter, etwa 0.4 proc. wässeriger Lösung mit Aetzalkali, Ammoniak oder Alkalicarbonat vorsichtig neutralisirt, so entsteht Anfangs ein gelber, flockiger, amorpher Niederschlag, der sich aber bald, namentlich beim Schütteln oder Reiben mit einem Glasstabe, in glitzernde, orangefarbige Krystalle verwandelt. Die abfiltrirten und gut mit Wasser ausgewaschenen, sodann auf Fliesspapier an der Luft getrockneten Krystalle ergaben bei der Kohlenwasserstoffbestimmung C 74.84 Proc. und H 5.47 Proc. Die Substanz enthält Krystallwasser, das sie langsam im Exsiccator über Schwefelsäure, vollständig erst im Luftbade bei 120° verliert, wobei die schön hellrothen Krystalle dunkelroth werden. Die Krystallwasserbestimmungen, sowie die Analysen der bei 120° getrockneten Substanz ergaben, dass sie nach der Formel $C_{17}H_{13}NO_3$ zusammengesetzt ist. Die Präparate verschiedener Darstellung ergaben einen Krystallwassergehalt zwischen 10.5 bis 11.2 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO_3 + 2H_2O$ verlangt einen Gewichtsverlust von 11.42 Proc. und C 64.76 Proc. und H 5.42 Proc., gefunden wurde C 64.84 Proc., H 5.47 Proc. Für die bei 115 bis 120° getrocknete Substanz wurde erhalten: C 72.70 Proc., H 4.60 Proc., N 5.01 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO_3$ verlangt C 73.12 Proc., H 4.66 Proc., N 5.02 Proc.

Der Körper, den man Brenzcatechinglycoisochinolin nennen könnte, entsteht daher aus seinem Chlorid durch Einwirkung von Alkalien unter Abspaltung eines Moleküls Wasser:

$$\underset{\displaystyle\dot{Cl}}{C_6H_3(OH)_2 . COCH_2 . N : C_9H_7} + KOH = HO . C_6H_3\left\langle\begin{matrix} CO . CH_2 . N : C_9H_7 \\ O \text{———}\end{matrix}\right. + H_2O + KCl.$$

Der Körper ist in Wasser unlöslich, nur wenig löslich in Aether und Alkohol. Die alkoholische Lösung giebt mit einem Tropfen höchst verdünnter Eisenchloridlösung versetzt eine rothe Färbung, durch Zusatz von mehr Eisenchlorid wird die Färbung grün. Die Lösung des Chlorids, sowie überhaupt jede saure Lösung der Base wird durch Eisenchlorid, gleich wie alle Brenzcatechinderivate, in denen die beiden Hydroxyle frei sind, grün gefärbt. Wegen der Orthostellung der beiden Hydroxyle verhält sich das Chlorid, sowie die anderen Salze der Base wie ein beizenziehender Farbstoff und färbt mit Eisensalz gebeizte Baumwolle schwarz, Thonerdebeizen gelb und Chrombeizen röthlichbraun an. Beiläufig bemerkt ist das Apomorphin ein ebenfalls beizenziehender Farbstoff und färbt als salzsaures Salz Eisenbeizen schwarz, Chrombeizen grauviolett an. Thonerdebeizen werden nicht deutlich angefärbt. Morphin färbt gebeizte Baumwolle nicht an.

Man könnte geneigt sein, die Abspaltung von Wasser durch Alkalien aus dem Chlorid einer quaternären Base im Sinne der A. W. Hofmann'schen Reaction zu deuten. Mir ist die Anhydridform wahrscheinlicher. Die freie Base mit verdünnter wässeriger Lösung von Salzsäure, Schwefelsäure, Weinsäure, Oxalsäure u. s. w. in der Kälte geschüttelt, löst sich darin zu farblosen, krystallinischen Salzen auf und kann aus diesen Lösungen durch genaue Neutralisation mit Soda wieder unverändert ausgefällt werden. Durch Eisenchlorid wird ihre alkoholische Lösung Anfangs roth gefärbt und erst beim Ueberschuss des sauer reagirenden Eisensalzes tritt die grüne Färbung auf. Durch Alkalien im Ueberschuss wird sie rasch unter Bildung brauner amorpher Producte zersetzt. Alles das spricht zu Gunsten der Anhydridform einer leicht veränderlichen quaternären Base.

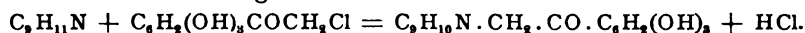
Ganz auf die gleiche Weise wie aus Chloracetobrenzcatechin wird aus Chloracetopyrogallol und Isochinolin das Chlorid der quaternären Base, $C_{17}H_{13}NO_4HCl$, erhalten. Aequivalente Mengen Isochinolin und Chloracetopyrogallol, letzteres vorher mit ein wenig absolutem Alkohol vermischt, werden auf dem Wasserbade kurze Zeit erwärmt und nach vollendeter Einwirkung der entstandene Krystallbrei abfiltrirt und mit Aether gewaschen. Die auf Fliesspapier getrockneten Krystalle werden aus heissem Wasser, unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure umkrystallisirt. Beim Erkalten scheidet sich das in Wasser nur wenig lösliche Chlorid in feinen weissen Nadeln ab. Die weitere Untersuchung dieser Substanz wurde von Herrn mag. pharm. W. Schulz ausgeführt, der mir darüber Folgendes mittheilte:

Das Chlorid im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet, ergab bei der Analyse C 61.73 Proc., H 4.14 Proc., N 4.25 Proc. und Cl 10.56 Proc. Die Formel $C_{17}H_{14}NO_4Cl$ verlangt C 61.54 Proc., H 4.22 Proc., N 4.22 Proc., Cl 10.71 Proc. Die wässerige Lösung des Chlorids giebt mit Platinchlorid ein Doppelsalz von der Zusammensetzung $[C_6H_2(OH)_3 . CO . CH_2 . N \vdots C_9H_7HCl]_2PtCl_4 + 4H_2O$. Das Platindoppelsalz erhält man krystallinisch in Form von kleinen, gelben Nadeln, und zwar aus kalt gesättigter Lösung mit 4 Molekülen, aus heisser Lösung mit 3 Molekülen Krystallwasser. In Alkohol und kaltem Wasser sind die Krystalle schwer, in heissem Wasser viel leichter löslich und können aus dem letzteren Lösungsmittel gut umkrystallisirt werden. Die nach erstem Verfahren erhaltenen Krystalle verloren bei 110^0 getrocknet 6.79 und 6.86 Proc. an Gewicht. Die obige Formel mit 4 Molekülen Krystallwasser verlangt einen Gewichtsverlust von 6.72 Proc. Die aus heisser Lösung abgeschiedenen Krystalle verloren bei 110^0 5.58 und 5.52 Proc. an Gewicht. Der Gewichtsverlust für 3 Moleküle Krystallwasser ist gleich 5.13 Proc. Das bei 110^0 getrocknete Salz enthielt Pt 19.13 Proc. und Cl 21.01 Proc. Die Formel $(C_{17}H_{13}NO_4HCl)_2PtCl_4$ verlangt Pt 19.46 Proc. und Cl 21.31 Proc.

Wird die kalt gesättigte Lösung des Chlorids tropfenweise mit Sodalösung versetzt und die Flüssigkeit fleissig umgeschwenkt, so scheidet sich sehr bald die freie Base krystallinisch ab. Das Pyrogallolglycoisochinolin bildet ein dunkel rosenrothes, aus sechsseitigen Tafeln bestehendes Krystallpulver, das in kaltem Wasser fast unlöslich ist. Durch Kochen mit Wasser wird es zersetzt. Durch Alkalien wird es rasch oxydirt und spaltet Isochinolin ab; auch beim Liegen an der Luft färbt es sich bald dunkelbraun, wobei der Geruch nach Isochinolin bemerkbar wird.

Mit Tetrahydrochinolin verbinden sich die beiden Chloroxyketone zu krystallinischen Producten, die ihrer Entstehung nach als tertiäre Basen aufzufassen wären, die aber keine basischen Eigenschaften haben und mehr indifferente Körper sind.

Reines salzsaures Tetrahydrochinolin wurde mit wässeriger Kalilauge zersetzt, die dabei freigewordene Base mit Aether ausgeschüttelt und nach Abdestilliren des Aethers mit der äquivalenten Menge des Chloracetopyrogallols, bei Anwendung von 10 bis 20 g des $C_9H_{11}NHCl$, $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Das Reactionsproduct wird mit Wasser übergossen und die ausgeschiedene Verbindung zwecks Beseitigung des entstandenen salzsauren Tetrahydrochinolins resp. des noch unveränderten Chlorketons mit heissem Wasser ausgekocht, auf Fliesspapier getrocknet und aus 60 proc. Alkohol umkrystallisirt. Die so erhaltene gelbe, schön krystallisirende Verbindung ist in kaltem und heissem Wasser fast unlöslich, leicht löslich in Alkohol, wenig in Aether und Chloroform. Sie enthält kein Chlor, schmilzt bei 177 bis 178° und über Schwefelsäure getrocknet ergab sie bei der Analyse mit der Formel $C_{17}H_{17}NO_4$ übereinstimmende Zahlen. Gefunden C 68.42, H 5.98, N 4.75 Proc.; berechnet C 68.23, H 5.69, N 4.68 Proc. Die Reaction fand also statt im Sinne der Gleichung:

$$C_9H_{11}N + C_6H_2(OH)_3COCH_2Cl = C_9H_{10}N.CH_2.CO.C_6H_2(OH)_3 + HCl.$$

Nur wurde nicht das erwartete salzsaure Salz erhalten, da die Substanz sich weder mit organischen noch Mineralsäuren zu Salzen verbindet; hingegen vermöge ihrer Hydroxyle, in alkoholischer Lösung mit alkoholischer Bleiacetat- oder Chlorzinklösung versetzt, gelb gefärbte, amorphe, in Alkohol unlösliche Metallsalze bildet. Wird diese Verbindung, die wir Hydrochinolinglycopyrogallol nennen wollen, mit dem sechsfachen Gewichte concentrirter Schwefelsäure auf dem Wasserbade bis zu vollständiger Lösung und beginnender Entwickelung von Schwefeldioxyd erwärmt, hierauf mit etwa 20 Theilen Wasser versetzt, so krystallisirt beim Erkalten in Form weisser Blättchen die Sulfosäure des Körpers aus, welche auf ein Filter gebracht und mit kaltem Wasser nachgewaschen wird. In Alkohol und kaltem Wasser ist diese Sulfosäure schwer, leichter in siedendem Wasser löslich. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 188°.

Bei der Elementaranalyse wurde gefunden: C 53.79, H 4.77, SO_3 21.24 Proc. Die Formel $C_{17}H_{16}NO_4.SO_3H$ verlangt: C 53.83, H 4.48, SO_3 21.11 Proc.

Interessant ist das Verhalten des Hydrochinolinglycopyrogallols gegen Phenylhydrazin. In der Absicht, das Phenylhydrazon dieses Körpers darzustellen, habe ich unter verschiedenen Modificationen der Versuchsbedingungen Phenylhydrazin darauf einwirken lassen, stets aber ein und dasselbe Product erhalten, dessen Elementaranalysen zu der empirischen Formel $C_{20}H_{20}N_4O_3$ führten. Am zweckmässigsten wird diese Verbindung auf folgende Weise dargestellt. 5 g Hydrochinolinglycopyrogallol, 10 g Phenylhydrazin und 10 g Eisessig werden allmählich zum Kochen erhitzt. Sobald die Flüssigkeit siedet, wird die Flamme entfernt und man lässt unter Umrühren sich die Reaction vollenden. Beim Erkalten krystallisirt das neue Product aus. Es wird auf dem Filter mit Alkohol gewaschen und aus absolutem Alkohol umkrystallisirt. Der Körper bildet feine, seidenglänzende, gelbe Nadeln, die bei 214 bis 215° schmelzen, in Wasser unlöslich und in Alkohol schwer löslich sind.

Die Elementaranalysen der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergaben C 65.89, H 5.62 und C 65.70, H 5.52, N 15.07 und 15.36 Proc. Die Formel $C_{20}H_{20}N_4O_3$ verlangt: C 65.93, H 5.49, N 15.38 Proc.

Die Zahlen der Analyse erklären sowohl den Verlauf der Reaction, wie auch die Constitution der neu entstandenen Verbindung. Es geht aus ihnen hervor, dass in ihrem Molekül zwei Phenylhydrazingruppen enthalten sind und ihre Constitution der Formel

$$C_6H_2(OH)_3 . \overset{..}{C} . CH_2 . NH . NH . C_6H_5$$
$$N . NH . C_6H_5$$

entspricht.

Es ist dies ein ähnlicher Vorgang, wie es z. B. nach den Untersuchungen von A. Bischler[1]) bei der Bildung der substituirten Indole aus Ketonen der Fall ist. Das Hydrochinolin wird durch das Phenylhydrazin verdrängt und gleichzeitig oder vielleicht erst in der zweiten Phase reagirt ein zweites Molekül Phenylhydrazin mit dem Ketonsauerstoff.

Auf ganz gleiche Weise wie aus Chloracetopyrogallol wird aus Chloracetobrenzcatechin und Tetrahydrochinolin das Hydrochinolinglycobrenzcatechin, $C_{17}H_{17}NO_3$, erhalten. Der Körper bildet glänzende, gelbe Blättchen, die bei 170° schmelzen und in Alkohol löslich, in Wasser unlöslich sind. Auch dieser Körper giebt mit Säuren keine Salze. Mit dem sechsfachen Gewichte concentrirter Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt, wird er in eine krystallinische Sulfosäure von der Zusammensetzung $C_{17}H_{16}NO_3SO_3H$ verwandelt, die durch Eisenchlorid oder Salpetersäure tiefroth gefärbt wird.

Aus Chloracetobrenzcatechin und Tetrahydroisochinolin gelang es mir nicht, die entsprechende Verbindung, die ich des Vergleichs halber darstellen wollte, zu erhalten. Bei der Einwirkung des Chlorketons wird das Tetrahydroisochinolin rasch oxydirt und es entsteht vorwiegend das Chlorid der quaternären Base, die aus Chloracetobrenzcatechin und Isochinolin erhalten und oben beschrieben wurde.

Weder in den gechlorten Oxyketonen, noch in den aus Chloroxyketonen und Aminen erhaltenen Basen gelang es uns, den Ketonsauerstoff zu reduciren.

Bei Anwendung der verschiedensten Reductionsmittel wurden diese Körper entweder nicht angegriffen oder es erfolgt eine Sprengung des ganzen Moleküls, so dass ich meine Absicht, zu sauerstoffhaltigen Basen zu gelangen, welche den n vorkommenden verwandt wären, auf diesem Wege zu realisiren, aufgegeb Nach manchen Versuchen habe ich einen anderen Weg eingeschlagen, der, bisherigen Resultate zu schliessen gestatten, mehr versprechend ist.

So viel mir bekannt, waren es Wallach und Wüsten[2]), welche aromatische Aldehyde mit Chinaldin condensirten. Kurz darauf erschien die i

[1]) Ber. 25, 2860.

[2]) Ebenda 16, 2007.

essante Mittheilung von Jacobsen und Reimer[1]), und es ist bekannt, mit wie schönen Erfolgen diese Reaction von Miller, Ladenburg und ihren Schülern verwerthet worden ist. Ich habe die Einwirkung aromatischer Oxyaldehyde auf tertiäre Basen, die in der Seitenkette Methyl enthalten, genauer untersucht und war erstaunt, mit welcher Leichtigkeit gerade Chinaldin mit diesen Aldehyden reagirt. Aus Protocatechualdehyd, Vanillin, Piperonal, Furfurol werden mit Chinaldin schon beim Erwärmen auf dem Wasserbade in fast quantitativer Ausbeute schön krystallisirende, meistens gelb gefärbte Basen erhalten, die durch Einwirkung des metallischen Natriums in alkoholischer Lösung leicht in ebenfalls schön krystallisirende, farblose Hydrobasen sich überführen lassen. Am eingehendsten habe ich die aus Vanillin und Chinaldin erhaltene Base untersucht und will sie hier zunächst beschreiben. In kleinem Maassstabe wird diese Base, die ich Vanilloäthylenchinolin nennen will, erhalten, wenn man äquivalente Mengen der beiden Substanzen, also z. B. 13 g Vanillin und 14 g Chinaldin, in einem offenen Kölbchen unter Zusatz von 3 bis 5 g Chlorzink auf dem Wasserbade erwärmt. Nach vier- bis sechsstündigem Erhitzen wird die Anfangs flüssige Schmelze fest und krystallinisch, während die im Halse des Kölbchens sich ansammelnden Wassertropfen den hier stattfindenden Vorgang andeuten. Zweckmässig ist es, etwas länger, etwa 8 bis 10 Stunden, das Erhitzen fortzusetzen, bis die Schmelze ganz hart geworden. Bei Anwendung der zehnfachen Menge Vanillin, resp. Chinaldin, musste das Erhitzen drei Tage lang fortgesetzt werden. Nach vollendeter Reaction wird die Schmelze mit verdünnter Salzsäure auf dem warmen Wasserbade digerirt, bis der Krystallkuchen sich von der Wand des Kolbens loslöst, worauf er im Mörser zerrieben und in heisser, verdünnter Salzsäure gelöst wird. Aus der heiss filtrirten Lösung krystallisirt in rothen Nadeln das salzsaure Salz der Base aus, das abfiltrirt, zwischen Fliesspapier abgepresst und noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt wurde.

Die Elementaranalysen des lufttrockenen Salzes ergaben, dass es nach der Formel $C_{18}H_{15}NO_2HCl + 2^1/_2 H_2O$ zusammengesetzt ist. Es wurde gefunden: C 59.95, H 6.17 und Cl 9.94 Proc. Die obige Formel verlangt: C 60.25, H 5.85 und Cl 9.90 Proc. Bei 100° entweicht das Krystallwasser. Eine Chlorbestimmung in dem bei 100° getrockneten Präparate ergab Cl 11.24 Proc. Die Formel $C_{18}H_{15}NO_2HCl$ verlangt 11.32 Proc. Cl.

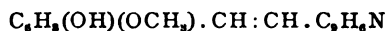
Wird die salzsaure Lösung der Base mit wässerigem Platinchlorid im Ueberschuss versetzt, so entsteht sofort ein voluminöser, rother, amorpher Niederschlag, der sorgfältig ausgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet 20.47 Proc. Pt enthielt. Die Formel $(C_{18}H_{15}NO_2HCl)_2PtCl_4$ verlangt 20.42 Proc. Pt.

Aus dem chlorwasserstoffsauren Salze wird die freie Base erhalten durch Fällung der kalt gesättigten Lösung des Salzes mit Sodalösung. Es entsteht ein voluminöser, gelber Niederschlag, der abfiltrirt, gut ausgewaschen, zwischen Fliesspapier getrocknet und aus heissem Methyl- oder Aethylalkohol umkrystallisirt wird. Beim Erkalten der heiss filtrirten Lösung scheidet sich die Base in gelben, glitzernden Blättchen aus, die an der Luft oder über Schwefelsäure getrocknet mit der Formel $C_{18}H_{15}NO_2$

[1]) Ber. 16, 2602 u. ff.

übereinstimmende Zahlen ergaben. Gefunden: C 78.18, H 5.71, N 5.20 Proc., berechnet C 77.97, H 5.41, N 5.05 Proc.

Das Vanilloäthylenchinolin, dessen Constitution zweifellos der Formel

$$C_6H_3(OH)(OCH_3).CH:CH.C_9H_6N$$

entspricht, ist in Wasser fast unlöslich, schwer löslich in Säuren, mit denen es gut krystallisirende Salze bildet. Da die Base ein freies Hydroxyl enthält, so löst sie sich in starker Natronlauge und bildet damit ein in gelben Nadeln krystallisirendes Salz. In concentrirtem Ammoniak ist sie nur wenig löslich; unlöslich in Alkalicarbonaten. Die alkoholische Lösung der Base wird durch Eisenchlorid gelbroth gefärbt. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 182°. Mit Brom giebt sie ein Additionsproduct von der Zusammensetzung $C_{18}H_{15}Br_2NO_2$, das auf folgende Weise erhalten wurde. Eine abgewogene Menge der Base wurde mit Alkohol zu einem dünnen Brei angerührt und dazu allmählich unter Umschütteln ein Molekül Brom, in Chloroform gelöst, hinzugesetzt. Die Flüssigkeit erwärmt sich etwas, die Base geht in Lösung. Man filtrirt, so lange die Lösung noch warm ist, und aus dem klaren Filtrate scheiden sich im Laufe von zwei bis drei Tagen an den Wänden und am Boden des Gefässes gelbe Krystalle ab, welche abfiltrirt, mit Alkohol nachgewaschen, zwischen Fliesspapier, sodann über Schwefelsäure und vor Lichteinwirkung geschützt bis zu constantem Gewicht getrocknet werden. Eine Brombestimmung ergab darin 36.32 Proc. Br. Die Formel $C_{18}N_{15}Br_2NO_2$ verlangt 36.60 Proc. Br.

Im Capillarröhrchen erhitzt, bräunt sich das Bromid gegen 220°, ohne zu schmelzen. In concentrirter Schwefelsäure löst es sich auf, ohne Entwickelung von Bromwasserstoff.

Wird Vanilloäthylenchinolin in einem Kolben am Rückflusskühler in absolutem Alkohol durch Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst und werden durch die obere Oeffnung des Kühlers kleine Stückchen metallischen Natriums in die Lösung eingetragen, so färbt sich die Flüssigkeit strohgelb und wird schliesslich fast farblos. Die Lösung wird jetzt mit Alkohol verdünnt, heiss filtrirt und allmählich unter Kühlung mit verdünnter Salzsäure bis zu deutlich saurer Reaction versetzt. Jetzt wird die Flüssigkeit in einer flachen Schale bei gelinder Temperatur auf dem Wasserbade verdunstet, bis der Alkohol sich grösstentheils verflüchtigt, worauf beim Erkalten in schönen, schwach gelb gefärbten Nadeln das salzsaure Salz der hydrirten Base auskrystallisirt. Das abfiltrirte, mit Wasser ausgewaschene Salz w[illegible] noch einmal aus verdünnter Salzsäure, worin es nur wenig löslich ist, umkry[illegible] und über Schwefelsäure getrocknet. Eine Chlorbestimm[illegible] ergab darin 10.77 [illegible] mit der erwarteten Formel $C_{18}H_{21}NO_2HCl$ ziemli[illegible] [illegible]mmt (ber. [illegible]

Um die freie Base zu erhalten, wurde die [illegible] wässerige [illegible] Chlorhydrates mit Soda bis zu alkalischer Reac[illegible] [illegible] milchige Trübung und am Boden des Becherglases [illegible] nach mehrstündigem Stehen auf Eis krystallinisch ers[illegible] werden am besten aus 70 proc. Aethyl- oder auch M[illegible] Anfangs ist die Base etwas bräunlich ge[illegible] Durch [illegible] erhielt ich sie in ganz farblosen Krystall[illegible]

bei 88⁰ schmolzen und bei der Verbrennung 76.16 Proc. C und 7.44 Proc. H ergaben, was mit der Formel $C_{18}H_{21}NO_2$ übereinstimmt.

Wie zu erwarten war, ist also das Vanilloäthylenchinolin zu Vanilloäthyltetrahydrochinolin entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_3(OH)(OCH_3).CH:CH.C_9H_6N + H_6 = C_6H_3(OH)(OCH_3).CH_2.CH_2.C_9H_{10}N$$

reducirt worden. Bei sorgfältiger Operation ist die Ausbeute an hydrirter Base eine sehr gute.

Die Base ist nicht giftig. Sehr charakteristisch für sie ist die fuchsinrothe Färbung, die die wässerige Lösung des salzsauren Salzes mit Eisenchlorid oder verdünnter Salpetersäure zeigt und die namentlich bei gelindem Erwärmen hervortritt.

Auf ganz gleiche Weise wie aus Vanillin wird aus Piperonal und Chinaldin das Piperonäthylenchinolin, $C_{18}H_{13}NO_2$, erhalten. 6.0 g Chinaldin wurden mit 7.0 g Piperonal und einer Messerspitze Chlorzink in einem offenen Kölbchen auf dem Wasserbade erwärmt. Schon nach drei Stunden erstarrte die Schmelze krystallinisch. Nach sechsstündigem Erwärmen wurde der Krystallkuchen mit Alkohol ausgekocht und heiss filtrirt, worauf aus dem Filtrate die freie Base in kaum gelb gefärbten Nädelchen auskrystallisirte. Noch einmal aus heissem Alkohol, worin die Base nur wenig löslich ist, umkrystallisirt, ergab das Piperonäthylenchinolin nach dem Trocknen im Exsiccator bei der Verbrennung C 78.45, H 4.78 und N 5.14 Proc. Die Formel $C_{18}H_{13}NO_2$ verlangt C 78.54, H 4.72 und N 5.08 Proc. Durch Eisenchlorid wird die Base nicht gefärbt. Sie schmilzt bei 155⁰. In Wasser ist sie unlöslich, nur wenig in Aether und Alkohol. Mit verdünnter Salzsäure giebt sie ein in rothen Nadeln krystallisirendes Salz, das gleich, wie das salzsaure Vanilloäthylenchinolin, in Wasser nur wenig löslich ist.

Wie ich gefunden habe, reagiren auch die Aldehydosäuren in ebenso glatter Weise mit Chinaldin. Von den verschiedenen hier theoretisch zu erwartenden neuen Verbindungen hat mich namentlich das Verhalten der Opiansäure zu Chinaldin interessirt. 4 g Opiansäure und 3 g Chinaldin wurden mit etwas Chlorzink in einem offenen Kölbchen auf dem Wasserbade erwärmt. Schon die in den ersten Stunden im Halse des Kölbchens auftretenden Wassertropfen waren ein Zeichen, dass hier eine Einwirkung stattfindet. Nach 15 stündigem Erwärmen wurde die Schmelze in verdünnter Salzsäure gelöst, filtrirt und mit Soda gefällt, wobei sich das Reactionsproduct in feinen verfilzten, nur wenig gelb gefärbten Nadeln ausscheidet. Durch Umkrystallisiren aus 60 proc. Alkohol oder wiederholtes Auflösen in verdünnter Salzsäure und Fällen mit Soda werden die Krystalle völlig weiss erhalten. Für die Gewinnung des neuen Productes ist der Zusatz von Chlorzink nicht absolut nothwendig. Bei wiederholter Darstellung mit einer grösseren Menge — es wurden 15 g Opiansäure mit der äquivalenten Menge Chinaldin 30 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt — erhielt ich auch jetzt die gleiche Substanz, doch war die Ausbeute merklich geringer. Wie schon das Isolirungsverfahren zeigt, hat dieser Körper basische Eigenschaften. Er ist in verdünnten Säuren und Alkohol leicht löslich, weniger in Aether. In Wasser und Alkalien ist er unlöslich; auch in Natronlauge nicht, selbst beim Erwärmen. Beim längeren Kochen mit Natronlauge tritt der Geruch nach Chinolin auf. Die lufttrockene Substanz schmilzt im Capillarröhrchen

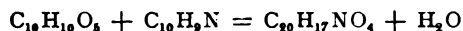
bei 103° und ergab bei der Analyse 67.70 Proc. C und 5.38 Proc. H. Dasselbe Präparat, bei 105 bis 110° bis zu constantem Gewicht getrocknet, verlor 4.97 Proc. an Gewicht und gab bei der Verbrennung 71.9 Proc. C, 5.06 Proc. H und 4.11 Proc. N. Die Formel $C_{20}H_{17}NO_4$ verlangt C 71·64 Proc., H 5.07 Proc. und N 4.18 Proc. Die Formel für die wasserhaltige Base $C_{20}H_{17}NO_4 + H_2O$ verlangt 67.96 Proc. C und 5.38 Proc. H und für ein Molekül Krystallwasser einen Gewichtsverlust von 5.09 Proc.

Die weisse, lufttrockene Substanz verwandelt sich nach dem Trocknen bei 105° in eine gelbe, homogene Masse, die gepulvert im Capillarröhrchen erst bei 174 bis 175° schmilzt, in Alkohol nur wenig löslich ist und daraus beim Verdunsten in mikroskopischen gelben Krystallen sich abscheidet. Während die lufttrockene Substanz in Salzsäure leicht löslich ist, giebt sie nach dem Trocknen ein in Wasser ziemlich schwer lösliches Salz, das in gelben Nadeln krystallisirt. Die Lösung dieses Salzes, mit Soda neutralisirt, giebt wiederum die farblosen, verfilzten Nadeln des Hydrates. Das salzsaure Salz, Anfangs an der Luft, dann bei 105° bis zu constantem Gewicht getrocknet, ergab bei der Verbrennung: C 64.67 Proc., H 5.25 Proc., Cl 9.76 Proc.

Die Formel $C_{20}H_{17}NO_4HCl$ verlangt C 64.62 Proc., H 4.84 Proc. und Cl 9.55 Proc. Eine concentrirte Lösung des Chlorhydrates, mit Platinchlorid versetzt, gab ein gelbes, amorphes Doppelsalz, das bei 105° getrocknet 18.13 Proc. Pt enthielt. Die Formel $(C_{20}H_{17}NO_4HCl)_2PtCl_4$ verlangt 18.26 Proc. Pt.

Beim Vermischen verdünnter alkoholischer Lösung des Chlorhydrates mit alkoholischem Platinchlorid krystallisirt ein krystallwasserhaltiges Doppelsalz, welches, bei 105° getrocknet, ebenfalls 18.2 Proc. Platin enthielt.

Aus den analytischen Daten geht also hervor, dass der Base die Zusammensetzung $C_{20}H_{17}NO_4$ zukommt und sie aus Opiansäure und Chinaldin nach der Gleichung:

$$C_{10}H_{10}O_5 + C_{10}H_9N = C_{20}H_{17}NO_4 + H_2O$$

entsteht. Da der Körper durchaus keine sauren, dagegen entschieden basische Eigenschaften hat, so ist hier jedenfalls die Carboxylgruppe der Opiansäure in Reaction getreten.

Die mögliche Constitutionsformel dieser Verbindung, die ich vorläufig Opianylchinaldin nennen werde, will ich dann besprechen, wenn ich die analogen Verbindungen aus anderen Aldehydosäuren genauer untersucht habe.

Mit diesem Körper ist das Berberin, das am meisten im Pflanzenreiche verbreitete Alkaloid isomer. Dass das Opianylchinaldin mit dem Berberin nur isomer und nicht identisch ist, zeigt schon die oberflächliche Betrachtung der Eigenschaften der beiden Basen. Das Berberin krystallisirt mit $5^1/_2$ Mol. Krystallwasser, von welchen bei
nur drei entweichen (W. H. Perkin jun.). Es schmilzt bei 12[illegible]
löslich. Dagegen haben die beiden Basen in vielen Punkten
So reagirt die alkoholische Lösung des Opianylchinaldins nicht
saure Salz schmeckt bitter und ist nicht giftig. Nach den
W. H. Perkin jun.[1]) wurden aus dem Berberin durch Erhitzen

[1]) Ber. 22, 194. Ref.

wasserstoffsäure zwei Methylgruppen abgespalten und bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht aus dem Berberin Hemipinsäure. Einer älteren Angabe von Bödeker[1]) zu Folge soll bei der Destillation von Berberin mit Kalkmich oder Bleihydroxyd Chinolin entstehen. Ich habe auch das salzsaure Salz der Base unter Zusatz von einigen Tropfen wässeriger Salzsäure in Alkohol gelöst und in einem empfindlichen Halbschattenapparat geprüft. Das Opianylchinaldin erwies sich, gleich wie das Berberin, als optisch inactiv. Mit Rücksicht auf die Constitution des Berberins wird die Darstellung des methylirten Isochinolins und daraus der dem Opianylchinaldin isomeren Base von grossem Interesse sein. Diese Untersuchungen werden von mir fortgesetzt.

Ueber die Condensationsproducte von Salicyl- und Paraoxybenzaldehyd mit Chinaldin

von

S. Dzierzgowski.

Ber. **27**, 1979. — Eingegangen am 10. Juli.

Im Jahrgang 1883, Bd. **16**, 2007 der Berichte haben die Herren Wallach und Wüsten mitgetheilt, dass sie durch Condensation von Anilin, Nitrobenzol und Milchsäure mittelst concentrirter Schwefelsäure Chinaldin erhalten haben. Sie heben die wichtige Eigenschaft dieser Base, sich mit Aldehyden zu condensiren, hervor und beschreiben das Condensationsproduct des Chinaldins mit Benzaldehyd näher. Ueber die Condensation der Base mit anderen Aldehyden schreiben sie wie folgt:

„m-Nitrobenzaldehyd, mit Hülfe von Kaliumbisulfat condensirt, ist eine in farblosen, bei 154 bis 155° schmelzenden Nadeln krystallisirende Nitrobase. Ortho- und Paraoxybenzaldehyd geben in Alkali leicht lösliche Producte, welche die Eigenschaften schöner gelber Farbstoffe zeigen. Die Orthoverbindung krystallisirt leicht in gelben, bei 209 bis 210° schmelzenden Blättchen; die selbst in heissem Alkohol schwer lösliche Paraverbindung schmolz bei 264 bis 265°."

Ich habe die beiden Basen aus Chinaldin und Salicylaldehyd resp. Paraoxybenzaldehyd etwas eingehender untersucht und theile in Folgendem die erhaltenen Resultate mit.

Salicyläthylenchinolin.

Aus der Publication von Wallach und Wüsten sowie der von Jacobsen und Reimer[2]) geht hervor, dass Chinaldin mit Benzaldehyd bei Gegenwart von Chlorzink sich derart condensirt, dass zwei Wasserstoffatome des Chinolinmethyls mit dem Aldehydsauerstoff als Wasser austreten und die zurückbleibenden Radicale

---

[1]) Ladenburg's Handwörterbuch **1**, 399. (1882.)

[2]) Ber. **16**, 2606.

sich zu einem Aethylenderivat verbinden. Genau so erfolgt die Condensation mit anderen Aldehyden. Zur Darstellung der Base aus Salicylaldehyd resp. aus Paraoxybenzaldehyd und Chinaldin ist das folgende Verfahren das zweckmässigste. Aequivalente Mengen des Aldehyds und Chinaldins werden in einem Kölbchen mit $^1/_5$ des Gewichtes von Chlorzink versetzt und auf dem Wasserbade so lange erwärmt, bis die Schmelze zu einer festen Masse erstarrt, was bei Anwendung von 12 g Salicylaldehyd nach vier Stunden der Fall ist. Jetzt wird der Kolbeninhalt in Alkohol gelöst und in das 10- bis 15 fache Volumen kalten Wassers gegossen, wobei sich die Base in krystallinischen Flocken ausscheidet. Das erhaltene Product wird abfiltrirt, auf dem Filter nachgewaschen, mit 2 proc. Sodalösung erwärmt und das Ungelöste durch wiederholtes Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol gereinigt. Die Ausbeute ist nahezu theoretisch. Die Base krystallisirt in schönen, gelb gefärbten Nadeln (nicht Blättchen), die unzersetzt bei 209° schmelzen. Alkalien lösen sie mit orangegelber, Säuren mit orangerother Farbe auf. Die Base ist in Wasser und Alkalicarbonaten unlöslich, löst sich leicht in Alkohol, wenig in Chloroform, Aether und Benzol. Mit Eisenchlorid giebt die alkoholische Lösung keine Färbung. Die Analyse ergab C 82.41 Proc., H 5.32 Proc., N 5.69 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO$ verlangt C 82.59 Proc., H 5.26 Proc., N 5.65 Proc.

Das salzsaure Salz, erhalten durch Auflösen der Base in verdünnter Salzsäure, krystallisirt in orangerothen Nadeln, die unter Zersetzung zwischen 255 und 260° schmelzen. Das Salz löst sich leicht in Alkohol und kochendem Wasser; bei Abkühlen der wässerigen Lösung scheidet es sich in Form feiner Nadeln aus. Die Base besitzt ziemlich schwache salzbildende Eigenschaften, so dass die Salze bei längerem Kochen mit viel Wasser Säure abspalten und die freie Base sich abscheidet. Das salzsaure Salz, je nach der Concentration der angewandten Salzsäure, krystallisirt mit 1 oder $1^1/_2$ Mol. Wasser. Ein Präparat, das ungefähr aus 10proc. Salzsäure umkrystallisirt war, ergab bei der Analyse folgende Zahlen: H_2O 5.97 Proc., C 72.00 Proc., H 4.90 Proc., N 5.05 Proc.

Die Formel $C_{17}H_{13}NO.HCl + H_2O$ verlangt H_2O 6.08 Proc., C 71.97 Proc., H 4.93 Proc., N 4.93 Proc.

Ein anderes Product, das ich aus ungefähr 1 proc. Salzsäure umkrystallisirt und bei 110° getrocknet habe, ergab H_2O 8.84 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO.HCl + 1^1/_2 H_2O$ verlangt H_2O 8.72 Proc.

Die wässerige Lösung des Salzes giebt mit den Alkaloidreagentien, wie Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäure, Jodkalium-Jodquecksilber, Jodwismuth und Jodcadmium gelbe bis braungelbe amorphe Niederschläge. Die Base in saurer oder alkalischer Lösung reducirt weder Kupfer- noch Silberlösung. Das schwefelsaure, essigsaure, oxalsaure und weinsaure Salz, die ich dargestellt [illegible] sind alle in Wasser schwer löslich und schön krystallinisch. Metallisches N[illegible] die Base in alkoholischer Lösung zu Salicyläthyltetra[illegible] am zweckmässigsten auf folgende Weise ausgefü[illegible] flusskühler versehen ist, löst man die Base in al[illegible] und nach zu der stets kochenden Lösung durch [illegible] sches Natrium in kleinen Stückchen hinzu. B[illegible]

dauert die Reduction sechs bis acht Stunden. Nachdem die Reactionsmasse fast farblos geworden ist, löst man sie vorsichtig in viel Wasser auf, damit die etwa unzersetzt zurückgebliebenen Natriumstückchen nicht explodiren, und säuert mit Salzsäure an. Da das salzsaure Salz schwer zu isoliren ist, so wird die Lösung durch Zusatz von Soda schwach alkalisch gemacht, worauf sie milchig wird, und beim Stehen scheidet sich das Salicyläthyltetrahydrochinolin in Nadeln aus. Die Base wird durch Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol gereinigt. Sie krystallisirt in farblosen Nadeln, die bei 121° schmelzen. Sie löst sich leicht in Alkohol, weniger in Aether, Benzol und Chloroform, in Wasser ist sie selbst beim Kochen unlöslich. Bei der Elementaranalyse wurde folgende procentische Zusammensetzung gefunden: C 80.63 Proc., H 7.66 Proc. Die Formel $C_{17}H_{19}NO$ verlangt C 80.63 Proc., H 7.51 Proc., N 5.53 Proc.

Wird die concentrirte alkoholische Lösung der hydrirten Base mit Salzsäure versetzt, so fällt das Chlorhydrat der Base in blätterigen Krystallen oder Prismen aus, die zwischen 223 und 225° schmelzen. Das Salz ist in Alkohol leicht löslich, schwieriger in Wasser. Die Lösungen werden mit Eisenchlorid Anfangs gelb, dann braun gefärbt. Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäuren bilden mit der wässerigen Lösung des Salzes weisse amorphe Niederschläge, Jodkalium-Jodwismuth, Kaliumquecksilber und Kaliumcadmiumjodid geben gelbe Niederschläge. Concentrirte Schwefelsäure löst die Base farblos auf, concentrirte Salpetersäure oxydirt sie, wobei ein rother Farbstoff entsteht. Fehling'sche Lösung reducirt die Base nicht, wohl aber alkalische und saure Silberlösung. Die Elementaranalyse des Chlorhydrates ergab: C 70.63 Proc., H 7.98 Proc., Cl 12.10 Proc. Die Formel $C_{17}H_{19}NO.HCl$ verlangt C 70.26 Proc., H 7.90 Proc., Cl 12.26 Proc.

Paraoxybenzäthylenchinolin.

Auf ganz gleiche Weise wird die Base aus Paraoxybenzaldehyd bereitet. Der Krystallkuchen wird durch Auflösen in Alkohol und Ausfällen mit Wasser von Chlorzink befreit und die Base durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt. Die Base krystallisirt in gelben glänzenden Blättchen, die unter Zersetzung zwischen 258 bis 259° schmelzen. Sie ist in Alkohol viel schwieriger löslich als das Product aus Salicylaldehyd; gegen andere Lösungsmittel verhält sie sich dem letzteren aber ähnlich. Die alkoholische Lösung wird durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Eine Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult im Abel'schen Apparate, wobei Phenol als Lösungsmittel angewendet wurde, ergab eine Depression 4.06° für 1.270 g Substanz in 10.475 g Phenol, woraus unter Anwendung der Constante 76 für Phenol das Molekulargewicht 243 berechnet wurde. Nach der Formel $C_{17}H_{13}NO$ berechnet, ist das Molekulargewicht 247. Ferner ergab die Elementaranalyse der Base C 82.26 Proc. und H 5.41 Proc., die obige Formel verlangt C 82.59 Proc. und H 5.26 Proc. Das salzsaure Salz ist in kochendem Wasser und Alkohol leicht löslich. Beim Erkalten der wässerigen Lösung scheidet sich das Salz in Form purpurrother Nadeln aus, die $1\frac{1}{2}$ Mol. Krystallwasser enthalten, welches sowohl bei 100° wie schon im Exsiccator über Schwefelsäure entweicht.

Die Analyse des krystallwasserhaltigen Salzes ergab C 65.12 Proc., H 5.66 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO.HCl + 1^1/_2 H_2O$ verlangt C 65.37 Proc., H 5.47 Proc. Die im Exsiccator getrocknete Substanz ergab C 71.71 Proc., H 4.61 Proc. Die Formel $C_{17}H_{13}NO.HCl$ verlangt C 71.97 Proc., H 4.93 Proc.

Das Salz schmilzt unter Zersetzung zwischen 264 und 266°.

Paraoxyäthyltetrahydrochinolin wird auf ganz gleiche Weise wie die ihr isomere Base aus Salicylaldehyd bereitet. Die Base krystallisirt in farblosen Rhomboëdern, die bei 115° schmelzen. Die Elementaranalyse ergab C 80.51 Proc., H 7.40 Proc., N 5.61 Proc. Die Formel $C_{17}H_{19}NO$ verlangt C 80.63 Proc., H 7.51 Proc., N 5.53 Proc. Das salzsaure Salz der hydrirten Base krystallisirt in farblosen Nadeln, die kein Krystallwasser enthalten und bei 282° schmelzen. Das Salz ist leicht in Alkohol und kochendem Wasser löslich, sehr schwer in kaltem Wasser. Die Verbrennungen lieferten folgende Zahlen: C 70.81 Proc., H 6.62 Proc., N 4.70 Proc., Cl 12.11 Proc. Die Formel $C_{17}H_{19}NO.HCl$ verlangt C 70.46 Proc., H 6.90 Proc., N 4.83 Proc., Cl 12.26 Proc.

Die Lösungen des Salzes geben mit Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäure weisse Niederschläge, Jodkalium-Jodquecksilber fällt ölige Tropfen, Kaliumcadmium und Kaliumwismuthjodid bilden keine Fällung. Eisenchlorid färbt die wässerige Lösung zuerst olivenbraun, dann purpurroth, wobei sich Eisenhydroxyd ausscheidet. Silberlösungen in sauren und alkalischen Lösungen werden beim Kochen reducirt.

Mit Brom giebt das Salicyl- wie das Paraoxybenzäthylenchinolin je nach der Menge des zugesetzten Broms und der angewandten Lösungsmittel verschiedene Producte, mit deren Untersuchung ich noch beschäftigt bin.

Zur Kenntniss der aus Phenolen und halogensubstituirten Fettsäuren erhaltenen Ester und Ketone

von

S. Dzierzgowski.

Ber. 27, 1983. — Eingegangen am 10. Juli.

Im Jahrgang 1893, Seite 154 und 275 des Journals der russischen physikalisch-chemischen Gesellschaft [1]) veröffentlichte ich zwei Arbeiten über die Condensation[illegible] producte der halogensubstituirten Fettsäuren mit Phenolen und üb[illegible] [illegible]ie Producte, die durch Einwirkung verschiedener Amine auf di[illegible] producte entstehen. Aus Brenzcatechin und Chloressigsäure, Brom[illegible] und α-Brompropionsäure und α-Brombuttersäure erhielt ich be[illegible] Phosphoroxychlorid als Condensationsmittel die entsprechenden h[illegible]

---

[1]) Dieser Band S. 367 und 369.

Ketone des Brenzcatechins; aus Phenol, Hydrochinon und Guajacol werden unter gleichen Bedingungen nicht Ketone, sondern halogensubstituirte Ester erhalten. Resorcin, mit Phosphoroxychlorid und Chloressigsäure erhitzt, lieferte einen gelbrothen, stark grün fluorescirenden Farbstoff. Aus dem Chloracetobrenzcatechin und dem von Prof. Nencki dargestellten Chloracetopyrogallol habe ich durch Einwirkung von Ammoniak, Methylamin, Dimethylamin, Anilin, Monomethylanilin, Dimethylanilin, p-Amidophenetol, Chinolin, Pyridin und Piperidin verschiedene basische Producte erhalten, die sämmtlich, sei es als solche, sei es in Form ihrer Salze, schön krystallisiren und leicht zu erhalten sind.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen wurde das Verhalten der drei isomeren Phenylendiamine zu den Chloroxyketonen ermittelt. Nach den Versuchen, die Herr J. Tschistowitsch in unserem Laboratorium angestellt hat, ist es nur gelungen, die Verbindung aus Orthophenylendiamin mit dem Chloracetobrenzcatechin und Chloracetopyrogallol zu erhalten. Wie die nachfolgenden Versuche zeigen, geht die Reaction mit beiden Ketonen nach folgendem Schema vor sich, z. B. mit dem Chloracetobrenzcatechin:

$$HOC_6H_3(OH).CO.CH_2Cl + (NH_2)_2C_6H_4$$

$$= C_6H_3 \overset{O\text{———}}{\diagup} .OH.CO.CH_2.HN.\overset{HN\diagdown}{} C_6H_4 + HCl + H_2O.$$

Anhydrophenylendiimidoglycobrenzcatechin wird auf folgende Weise bereitet: Zwei Moleküle der Diaminbase werden auf dem Wasserbade etwa zwei Stunden erhitzt, bis die Anfangs flüssige Reactionsmasse vollständig erstarrt. Das erhaltene Product wird mit Wasser ausgekocht, getrocknet und in Eisessig aufgelöst. Nach Zusatz der doppelten bis dreifachen Menge Wasser zu der essigsauren Lösung fällt der Körper in gelben, nadelförmigen Krystallen aus, die durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt werden. Die Verbindung ist in Alkohol und Essigsäure ziemlich löslich, dagegen fast gar nicht in Wasser, Aether, Benzol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff. In Alkalien und Alkalicarbonaten ist sie schwer, dagegen leicht löslich in concentrirter Schwefelsäure. Aus der schwefelsauren Lösung wird der Körper durch Zusatz von Wasser in rothgefärbten Nadeln unverändert wieder gefällt. Die Verbindung zersetzt sich bei etwa 245°, ohne zu schmelzen, und gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.2595 g Substanz liefern 0.6269 g CO_2 und 0.1086 g H_2O oder 65.88 Proc. C und 4.43 Proc. H. 0.2612 g Substanz gaben 0.6279 g CO_2 und 0.0997 g H_2O oder 65.56 Proc. C und 4.24 Proc. H. Stickstoff wurde in einem Falle 11.31 Proc., in dem anderen 11.28 Proc. erhalten.

Um die Anzahl der freien Hydroxyle nachzuweisen, wurde das Acetylderivat des Körpers nach der Liebermann'schen Methode dargestellt. Das in farblosen Nadeln krystallisirende Product schmilzt bei 141°, ist in Alkalien unlöslich, leicht löslich in Alkohol und Essigsäure und lässt sich aus der letzteren gut umkrystallisiren. Die Analyse ergab folgende procentische Zusammensetzung:

0.2575 g Substanz lieferten 0.6420 g CO_2 und 0.1084 g H_2O oder 67.99 Proc. C und 4.63 Proc. H. 0.2494 g Substanz gaben 0.6214 g CO_2 und 0.1026 g H_2O oder 67.95 Proc. C und 4.57 Proc. H.

Die Zahlen entsprechen der Formel $C_{16}H_{17}N_2O_3$ und zeigen, dass nur ein Acetyl in das Molekül der Verbindung eingetreten ist. Dies, sowie der Umstand, dass das Acetylderivat mit Eisenchlorid nicht mehr Farbenreaction giebt, sprechen dafür, dass ein Hydroxyl durch Acetyl ersetzt wird und nicht ein Imidwasserstoff, wie man auch erwarten könnte.

Auf gleiche Weise kann das Anhydrophenylendiimidoglycopyrogallol dargestellt werden. Zwei Moleküle des Orthophenylendiamins werden mit einem Molekül Chlorgallacetophenon auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Masse erstarrt. Das Reactionsproduct wird in heissem Eisessig gelöst und von dem ungelösten Theil abfiltrirt, worauf beim Erkalten das neue Product in bräunlich gefärbten Nadeln auskrystallisirt. Dieser Körper verhält sich in allen seinen Lösungs- und anderen Eigenschaften ganz dem Producte aus Brenzcatechin ähnlich. In concentrirter Schwefelsäure löst er sich leicht auf und wird daraus durch Wasser in rothgefärbten Nadeln gefällt.

Die alkoholische Lösung des Körpers wird durch Eisenchlorid grün gefärbt. Diese Färbung spricht dafür, dass jetzt in der Verbindung gleich wie im Brenzcatechin nur zwei benachbarte Hydroxyle frei sind. Die Verbindung wird bei 290° ohne zu schmelzen zersetzt und ergab bei der Analyse folgende Zusammensetzung:

0.2595 g Substanz liefern 0.6269 g CO_2 und 0.1086 g H_2O, was 65.88 Proc. C und 4.43 Proc. H entspricht. 0.2612 g Substanz gaben 0.6279 g CO_2 und 0.0997 g H_2O, was 68.56 Proc. C und 4.24 Proc. H entspricht. Stickstoff wurde in einem Falle N 11.31 Proc., in dem anderen N 11.26 Proc. erhalten.

Das durch Erhitzen der Substanz mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat dargestellte Acetylderivat krystallisirt in farblosen Nadeln, die bei 143° schmelzen und am besten durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt werden. Die Analyse ergab, dass hier zwei Wasserstoffe durch Acetyle ersetzt sind, was aus folgenden Zahlen hervorgeht:

0.3349 g Substanz liefern beim Verbrennen 0.7778 g CO_2 und 0.1301 g H_2O, was 63.33 Proc. C und 4.31 Proc. H entspricht, Stickstoff wurden 7.78 Proc. gefunden.

Die Formel $C_{18}H_{16}N_2O_5$ verlangt C = 63.52 Proc., H = 4.70 Proc., N = 8.23 Proc.

Das aus Anilin und Chloracetobrenzcatechin erhaltene Anilid, $C_6H_3(OH)_2 . CO . CH_2 . NH . C_6H_5$, reagirt sehr leicht mit salpetriger Säure. Für die Reaction ist am zweckmässigsten das Anilid in Form seines schwefelsauren Salzes anzuwenden. Das schwefelsaure Salz wird durch Auflösen des Anilids in concentrirter Schwefelsäure und Verdünnen mit Wasser erhalten. Das Salz krystallisirt aus heissem
in farblosen, krystallwasserfreien Nadeln, die bei 208° schmelzen.

0.2522 g des Salzes gaben 0.0866 g $BaSO_4$ oder 1
enthielten 4.80 Proc. N.

Die Formel $[C_6H_3(OH_2) . CO . CH_2 . NH . C_6H_5]_2 SO_4$
SO_4H_2 und 4.81 Proc. N.

Zur Nitrosirung wird das Salz in kaltem Wasser aufgel

und mit der äquivalenten Menge einer ebenfalls eiskalten Natriumnitritlösung versetzt. Die Lösung wird milchig und beim Umrühren sammelt sich am Glasstabe und an den Wänden des Gefässes ein bräunlich gefärbtes zähes Harz an. Nach vollständigem Absetzen des Harzes und Klären der Flüssigkeit wird die wässerige Schicht abgegossen, das Harz durch Decantiren mit Wasser ausgewaschen und hierauf mit heissem Wasser geschüttelt, wobei sich das Harz in einen Krystallbrei verwandelt. Durch Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol wird die Substanz gereinigt. Das so erhaltene Product krystallisirt in schönen, gelblichen, feinen Nadeln, die bei 115° unter Zersetzung schmelzen.

Bei der Elementaranalyse wurde folgende procentische Zusammensetzung gefunden:

C 62.70, H 4.48, C 62.61, H 4.75, N 10.09 Proc.

Die erhaltenen Zahlen entsprechen am besten der empirischen Formel $C_{22}H_{19}N_3O_6$, welche C = 62.70 Proc., H = 4.51 Proc., N = 9.98 Proc. verlangt.

Die Einwirkung der salpetrigen Säure auf das Anilid lässt sich durch folgende Gleichung erklären:

$$\begin{array}{l}(OH)_2C_6H_3.CO.CH_2NH.C_6H_5\\(OH)_2C_6H_3.CO.CH_2NH.C_6H_5\end{array} + NO_2H = H_2O + C_6H_5OH + \begin{array}{l}(OH)_2C_6H_3.CO.CH_2.N.C_6H_5\\\qquad\qquad\qquad\qquad\quad \geqslant N\\(OH)_2C_6H_3.CO.CH_2.N\end{array}$$

Ist diese Interpretation richtig, so sind für die beste Ausbeute auf ein Aequivalent des Nitrits zwei Aequivalente des Anilids erforderlich und unter den Reactionsproducten muss Phenol vorhanden sein. Ich habe beides bestätigen können. Bei der wiederholten Darstellung habe ich nur ein halbes Aequivalent Natriumnitrit verbraucht und ganz wie im ersten Falle dieselbe Substanz in nahezu theoretischer Menge erhalten. Die Mutterlauge von dem entstandenen, Anfangs harzigen Product habe ich zur Hälfte des Volumens abdestillirt und in dem Destillat das Phenol mit Bromwasser ausgefällt. Das erhaltene Tribromphenol habe ich durch Schmelzpunktbestimmung und Elementaranalyse mit dem Tribromphenol identificirt. Der Körper, den ich Pyrocatechuglycophenyltriazin nennen will, löst sich schwer in kaltem Wasser, ziemlich gut in kochendem, leicht in Alkohol und Aether, weniger leicht in Benzol und Chloroform. Der Körper ist sehr unbeständig; von Alkalien und Alkalicarbonaten wird er mit gelber Farbe gelöst. Beim Erwärmen wird er unter Auftreten eines Geruches nach Isonitril gespalten. Durch Mineralsäuren wird er ebenfalls unter Bildung von salpetriger Säure gespalten.

Eine weitere Bestätigung der obigen Formel des Pyrocatechuglycophenyltriazins ist die ihm homologe aus Toluidglycobrenzcatechin erhaltene Verbindung, die den Analysen zu Folge nach der Formel $C_{23}H_{22}N_3O_6$ zusammengesetzt ist.

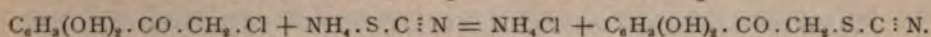
Die Darstellungsweise dieser Verbindung ist ganz der beschriebenen analog. Das Pyrocatechuglycotolyltriazin krystallisirt aus verdünntem Alkohol in krystallwasserfreien prismatischen Nadeln, die bei 120° unter Zersetzung schmelzen.

0.2844 g Substanz gab 0.658 g CO_2 und 0.1306 g H_2O oder 5.14 Proc. H und 63.14 Proc. C. 0.2806 g Substanz liefern 23.3 ccm N-Gas bei 15° C. und 770 mm Bst., das heisst 9.81 Proc. N.

Die Formel $C_{23}H_{22}N_3O_6$ verlangt C = 63.30 Proc., H = 5.04 Proc., N = 9.63 Proc.

Die Löslichkeitsverhältnisse dieses Körpers sind dem vorigen ähnlich, nur ist er gegen die Einwirkung der Säuren und Alkalien etwas resistenter. Alle Versuche, den Körper in saurer oder alkalischer Lösung zu reduciren, sind misslungen. Stets spaltet sich diese Verbindung unter Entwickelung von Isonitril.

Wird concentrirte wässerige Lösung des Chloracetobrenzcatechins und Chloracetopyrogallols mit Ammonium- oder Kaliumrhodanat gekocht, so wird das Chloratom durch den Rhodanrest ersetzt, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_3(OH)_2.CO.CH_2.Cl + NH_4.S.C:N = NH_4Cl + C_6H_3(OH)_2.CO.CH_2.S.C:N.$$

Das Rhodanglycobrenzcatechin wird am zweckmässigsten auf folgende Weise dargestellt: 20 g Chloracetobrenzcatechin werden in 600 ccm Wasser gelöst, der Lösung 80 g Rhodanammonium zugesetzt und zum Kochen erhitzt. Beim Erkalten scheiden sich grau gefärbte Krystalle ab, die kein Chlor, wohl aber Schwefel und Stickstoff enthalten. Die Krystalle werden abfiltrirt und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Das Rhodanat krystallisirt in farblosen Prismen, die kein Krystallwasser enthalten und zwischen 147 bis 150° C. schmelzen. Der Körper löst sich schwer in kaltem, leicht in warmem Wasser und Alkohol, weniger in Benzol, Chloroform und Aether. Mit Eisenchlorid färbt sich die wässerige und alkoholische Lösung dunkelgrün; ammoniakalische Silberlösung wird durch das Rhodanat unter Spiegelbildung reducirt. Die Elementaranalyse ergab: 6.67 Proc. N, 52.02 Proc. C und 3.65 Proc. H.

Die Formel $C_9H_7O_3NS$ verlangt N = 6.69 Proc., C = 51.91 Proc., H = 3.35 Proc.

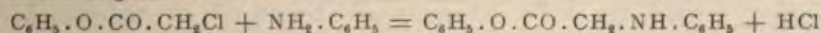
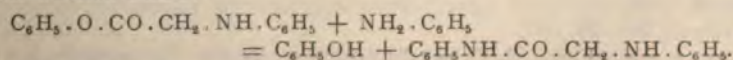
Auf gleiche Weise wird das Rhodanglycopyrogallol dargestellt. Der Körper krystallisirt in farblosen Nadeln, welche kein Krystallwasser enthalten und bei 196° schmelzen; auch die Löslichkeitsverhältnisse sind dem Product aus Brenzcatechin ähnlich.

Ber. für $C_9H_7O_4NS$:		Gefunden:	
C	48.00 Proc.	C	47.69 Proc.
H	3.11 „	H	3.21 „
N	6.19 „	N	6.14 „
S	14.22 „	S	13.93 „

Bei der Einwirkung der Amine auf die Chloressigsäureester wird das Chloratom leicht durch das basische Radical ersetzt, gleichzeitig aber wirkt ein zweites Molekül der Base verseifend ein, so dass in letzter Instanz nur substituirte Glycocolle erhalten werden. Die Einwirkung z. B. des Anilins auf Phenolchloressigsäureester verläuft auf folgende Weise:

$$C_6H_5.O.CO.CH_2Cl + NH_2.C_6H_5 = C_6H_5.O.CO.CH_2.NH.C_6H_5 + HCl$$

und in der zweiten Phase:

$$C_6H_5.O.CO.CH_2.NH.C_6H_5 + NH_2.C_6H_5 = C_6H_5OH + C_6H_5NH.CO.CH_2.NH.C_6H_5.$$

Bei der Einwirkung von Anilin auf Phenol oder Hydrochinonchloressigsäureester erhielt ich in beiden Fällen ein in farblosen Nadeln krystallisirendes Product, das in beiden Fällen, wie die Elementaranalyse und der Vergleich der chemischen und physikalischen Eigenschaften zeigte, eine und dieselbe Substanz, d. h. Phenylglycocollanilid war. Die aus Phenol- resp. Hydrochinonchloressigsäure erhaltenen Körper schmolzen bei 111° C. und bei der Analyse ergaben sie folgende Zahlen.

a) Körper aus Phenolchloressigsäureester:

C 74.48, H 6.4, N 12.31 Proc.

b) Körper aus Hydrochinonchloressigsäureester:

C 74.70, H 6.34, N 12.42 Proc.

Die Formel $C_{14}H_{14}N_2O$ verlangt C 74.33, H 6.19, N 12.39 Proc.

Ich habe versucht, Anilin in verschiedenen Verhältnissen auf die Ester einwirken zu lassen, in der Hoffnung, dass beim unzureichenden Anilin dasselbe nur substituirend und nicht verseifend wirken werde; doch ist es mir nicht gelungen, das gesuchte Zwischenproduct zu bekommen. Stets wurde das Phenylglycocollanilid erhalten, das schon früher von Willm und Wischin[1]) und später von Paul J. Meyer[2]) untersucht wurde.

Zum Schluss möchte ich noch bemerken, dass ich den Dimethyläther des Acetobrenzcatechins, $C_6H_3(OCH_3)_2 . CO . CH_3$, dargestellt habe, der sich als identisch mit dem Acetoveratron von Neitzel[3]) erwiesen hat. Der Dimethyläther krystallisirt in farblosen rhombischen Krystallen, die bei 48° schmelzen und bei 5 mm Druck bei 207° sieden. Es geht hieraus hervor, dass das durch Reduction des Chloracetobrenzcatechins mittelst Zinn und Salzsäure von mir dargestellte Acetobrenzcatechin, für das ich den Schmelzp. bei 116° gefunden habe, identisch ist mit dem Acetoprotocatechon von Neitzel, für welchen Körper er den Schmelzp. bei 96 bis 98° angegeben hat.

Ueber das Verhalten der aromatischen Oxyketone im Thierkörper

von

M. Nencki.

Ber. **27**, 2732. — Eingegangen am 6. October; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.

Schon vor längerer Zeit habe ich gezeigt, dass Acetophenon im Thierkörper zu Benzoësäure oxydirt und als Hippursäure ausgeschieden wird[4]). Seither wurden nach der von mir gefundenen allgemeinen Methode durch Erhitzen von Säuren und Phenolen mit Chlorzink eine ganze Reihe aromatischer Oxyketone dargestellt, und

[1]) Zeitschr. f. Chem. 1868, S. 74.
[2]) Ber. **8**, 1158.
[3]) Neitzel, Ber. **24**, 2863.
[4]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **18**, 288 (1878). — Nencki's Opera omnia **1**, 415.

es hat mich interessirt, das Verhalten dieser Oxyketone im Thierkörper kennen zu lernen. Die Versuche, die ich darüber gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Rekowski und Herrn Dr. Koroltschuk[1]) mit Gallacetophenon, Resacetophenon und dem Paroxypropiophenon angestellt habe, haben ergeben, dass alle diese drei Oxyketone im Thierkörper nicht zu den entsprechenden Carbonsäuren oxydirt, sondern als Aetherschwefelsäure und in Verbindung mit Glycuronsäure ausgeschieden werden.

Resacetophenon, $C_6H_3(\overset{1}{O}H)(\overset{3}{O}H)(\overset{4}{C}OCH_3)$, wird von mittelgrossen Hunden in Dosen von 2 bis 4 g täglich, auch bei längerer Fütterung, gut vertragen. Der schwach sauer reagirende Harn enthält kein Eiweiss und zeigt nach längerer Fütterung deutliche Linksdrehung. Frischer Harn reducirt alkalische Kupferlösung nicht, wohl aber nach Aufkochen mit Salzsäure. Die Aetherschwefelsäuren sind im Harn stark vermehrt, so dass bei längerer Fütterung ihre Menge grösser ist als die in Form von Alkalisulfat ausgeschiedenen. Wurde der Resacetophenonharn, der mit Eisenchlorid rothe Färbung zeigt, auf dem Wasserbade verdunstet, dann mit Alkohol extrahirt und nach Abdestilliren des Alkohols der Rückstand, sei es direct, sei es nach vorherigem Ansäuern ausgeäthert, so ging in den Aether nichts über — ein Zeichen, dass das Resacetophenon nur im gebundenen Zustande im Harne vorhanden war. Nach mehrfachen Versuchen, die Paarlinge des Resacetophenons aus dem Harne zu isoliren, hat uns folgendes Verfahren zum Ziele geführt:

Der Harn mit Resacetophenon gefütterter Hunde wird mit kohlensaurem Kali ganz schwach alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit viel absolutem Alkohol ausgekocht. Aus dem heissen, alkoholischen Filtrate krystallisiren beim Erkalten die Kalisalze der beiden Paarlinge. Die Krystalle werden abfiltrirt und der Alkohol auf die Hälfte bis zwei Drittel abdestillirt, worauf beim ruhigen Stehen in der Kälte sich von neuem Krystalle abscheiden. Sie werden abfiltrirt, mit absolutem Alkohol gewaschen und zwischen Fliesspapier getrocknet. Die auf diese Weise durch Verfütterung von 50 bis 100 g Resacetophenon gesammelten Kalisalze werden in möglichst wenig heissem Wasser gelöst und filtrirt, worauf sich beim Erkalten das Kalisalz der Resacetophenonschwefelsäure in nur schwach gefärbten Nadeln abscheidet. Durch ein- bis zweimaliges Umkrystallisiren, event. unter Zusatz von Thierkohle, werden die Krystalle vollkommen weiss erhalten. Das lufttrockene Salz enthält kein Krystallwasser. Durch Eisenchlorid wird es, ähnlich wie das Resacetophenon, roth gefärbt. Mit Chlorbaryum giebt die Lösung des Salzes keine Trübung. Schon durch gelindes Erwärmen mit Salzsäure wird es in Resacetophenon und Schwefelsäure gespalten. Die Analysen des Salzes ergaben mit der Formel $C_6H_3(COCH_3)(OH)(OSO_3K)$ gut übereinstimmende Zahlen.

Berechnet:		Gefunden:	
K	14.42 Proc.	K	14.32 Proc.
SO_3	29.62 „	SO_3	29.66 „

Das Filtrat von dem ausgefällten Baryumsalz wurde zur Trockne verdunstet und mit absolutem Alkohol ausgezogen; sodann der nach dem Verdunsten hinterbliebene krystallinische Rückstand aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt. Die erhaltenen

[1]) Inaug.-Dissert. von Dr. Koroltschuk, Dorpat 1894.

schneeweissen Krystalle, im Exsiccator getrocknet, schmolzen bei 142° und zeigten alle Reactionen des reinen Resacetophenons.

Die vom resacetophenonschwefelsauren Kalium abfiltrirte Mutterlauge wurde auf dem Wasserbade concentrirt, ohne dass beim Erkalten eine weitere Krystallisation erfolgte. Da auch nach Zusatz von Salzsäure keine Krystalle ausfielen, so wurde die jetzt saure Lösung mit kohlensaurem Kupfer im Ueberschusse geschüttelt, gelinde erwärmt und filtrirt. Aus dem warmen Filtrate krystallisirte beim Erkalten in blassblauen Nadeln ein Kupfersalz aus, das alle Eigenschaften eines Glycuronates hatte. Das Salz reducirte in alkalischer Lösung das Kupfer erst nach Kochen mit Salzsäure und enthielt weder Stickstoff noch Schwefel. Das auskrystallisirte Kupfersalz wurde filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und noch zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirt. Unter dem Mikroskope sehen die Krystalle vollkommen homogen aus. Die Elementaranalyse ergab jedoch keine scharf stimmenden Zahlen. Das lufttrockene Salz enthält Krystallwasser und verlor in zwei Bestimmungen bei 105° getrocknet 16.2 und 16.9 Proc. an Gewicht. Die Analyse des bei 105° getrockneten Kupfersalzes ergab:

C 43.85, H 4.13, Cu 15.15 Proc.

Die erhaltenen Zahlen entsprechen annähernd der Formel des resacetophenonglycuronsauren Kupfers, $C_{14}H_{14}O_9Cu$, welche 43.18 Proc. C, 3.59 Proc. H und 16.1 Proc. Cu verlangt. Der Wasserverlust beim Trocknen entspricht annähernd 4 Molekülen Krystallwasser. Nach der Formel $C_{14}H_{14}O_9Cu + 4H_2O$ sollte der Gewichtsverlust beim Trocknen 15.6 Proc. betragen.

Von allen Metallverbindungen der Resacetophenonglycuronsäure, die wir darzustellen versuchten, schien uns das Kupfersalz wegen seiner Krystallisationsfähigkeit für die Isolirung der Säure das geeignetste. Da aber auch dieses Salz nicht ganz rein erhalten wurde, so haben wir aus dem Rest der aus dem Harn erhaltenen Kalisalze die freie Resacetophenonglycuronsäure darzustellen versucht. Zu dem Zwecke wurden die Kalisalze in möglichst wenig Wasser gelöst, die Lösung auf 0° abgekühlt und mit Salzsäure im Ueberschusse versetzt. Beim Stehen auf Eis haben sich in kurzer Zeit feine, weisse Nadeln abgeschieden, die, wie es sich später zeigte, die gesuchte freie Resacetophenonglycuronsäure waren, während die leichter lösliche Resacetophenonätherschwefelsäure in Lösung blieb. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit wenig eiskaltem Wasser nachgewaschen, zwischen Fliesspapier getrocknet und noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt. Um sicher ein reines Präparat zu haben, wurde die Substanz noch aus heissem Alkohol umkrystallisirt. Ueber Schwefelsäure getrocknet ergab sie jetzt bei der Verbrennung folgende Zahlen:

C 48.63, H 5.23 Proc.

Die Formel $C_{14}H_{16}O_9 + H_2O$ verlangt 48.55 Proc. C und 5.20 Proc. H. Leider reichte das reine Material nur für eine Verbrennung aus. Wir konnten nur mit dem Rest constatiren, dass die freie Säure in Wasser leicht, in Alkohol weniger löslich ist. Die Lösung wird durch Eisenchlorid tief roth gefärbt und reducirt alkalisches Kupfer erst nach Erwärmen mit Salzsäure. Im Capillarröhrchen trocken erhitzt, bräunt sie sich unter Gasentwickelung bei etwa 170°.

Gleich wie von Hunden wird auch von Kaninchen das Resacetophenon als Aetherschwefelsäure und mit Glycuronsäure gepaart ausgeschieden. Ein grosses Kaninchen hatte vor der Eingabe von Resacetophenon in der 24stündigen Harnmenge 0.4722 g Schwefelsäure der Salze und 0.0347 g Aetherschwefelsäure, also im Verhältniss von 13.62 : 1. Nach Eingabe von 4 g Resacetophenon war die Schwefelsäure der Salze = 0.6069 g; die gebundene 0.1387 g, das Verhältniss also wie 4.38 : 1.

Der Kaninchenharn wurde auf gleiche Weise wie der Hundeharn verarbeitet und aus dem Gemenge der erhaltenen Kalisalze das für die Resacetophenonglycuronsäure charakteristische Kupfersalz dargestellt.

Als Aetherschwefelsäure und mit Glycuronsäure gepaart, wird auch das durch Erhitzen von Propionsäure und Phenol mit Chlorzink dargestellte und von mir Propionylphenol oder Paraoxypropiophenon[1]), $C_6H_4(\overset{1}{O}H)(CO\overset{4}{C}H_2CH_3)$, genannte Keton von Hunden und Kaninchen ausgeschieden. Von den Thieren wird das Keton gut vertragen. Ein Hund von 14 kg Körpergewicht erhielt täglich mit seinem Futter je 4 g des Ketons, im Ganzen innerhalb vier Wochen 90 g, ohne Störung seines Wohlbefindens. In dem eiweissfreien Harn sind die Aetherschwefelsäuren stark vermehrt, so dass sie mehr als die Hälfte der Gesammtschwefelsäure ausmachen. Der Harn zeigte eine schwache Linksdrehung, durchschnittlich um 1 bis 1.5°, und reducirte nach vorherigem Erwärmen mit Salzsäure alkalische Kupferlösung. Die Glycuronsäureverbindung des Propionylphenols wird gleich wie die des Resacetophenons durch basisches Bleiacetat gefällt, doch gelang es uns nicht, daraus die freie Säure rein zu gewinnen. Wurde der Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat von Schwefelblei auf dem Wasserbade verdunstet, so hinterblieb ein Syrup, aus dem nichts krystallisiren wollte, aus welchem aber durch Aufkochen mit Salzsäure und Extraction mit Aether das Propionylphenol leicht isolirt werden konnte. Die aus dem Aetherextracte erhaltenen Krystalle schmolzen im Capillarröhrchen bei 147° (Schmelzpunkt des reinen Propionylphenols), und die wässerige Lösung der Krystalle, mit einem Tropfen stark verdünnter Eisenchloridlösung versetzt, gab die für das Keton charakteristische amethystblaue Färbung. In grossen Mengen kann das Keton aus dem Harne erhalten werden, wenn derselbe auf ein kleines Volum verdunstet und hierauf mit ein Drittel seines Volumens reiner Salzsäure 5 bis 10 Minuten gekocht und hernach mit Aether extrahirt wird. Das aus dem Aetherextract erhaltene Propionylphenol schmolz bei 147° und gab bei der Verbrennung 71.72 Proc. C und 6.63 Proc. H. Die Formel $C_6H_4(OH)(COCH_2CH_3)$ verlangt 72.00 Proc. C und 6.68 Proc. H.

Auch bei Pflanzenfressern werden die Aetherschwefelsäuren nach Fütterung mit Propionylphenol stark vermehrt. Ein Kaninchen, das vor der Fütterung in der 24stündigen Harnmenge 0.2133 g Schwefelsäure der Salze und 0.016 g Aetherschwefelsäure, also im Verhältniss wie 13 : 1 enthielt, hatte am folgenden Tage nach Eingabe von 2 g des Ketons in der 24stündigen Harnmenge 0.3387 g Schwefelsäure der Salze und 0.1252 g Aetherschwefelsäuren, also im Verhältniss von 2.7 : 1. Durch

[1]) Wiener Monatshefte f. Chem. **10**, 906 und A. Goldzweig und A. Kaiser, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **43**, 86 (1891). — Dieser Band S. 125 und 236.

Kochen des Harns mit Salzsäure und Extraction mit Aether haben wir auch hieraus das reine Propionylphenol erhalten.

Mit dem Gallacetophenon, $C_6H_2(\overset{1}{O}H)(\overset{2}{O}H)(\overset{3}{O}H)(\overset{4}{CO}CH_3)$, hat schon früher Herr Dr. Rekowski[1]) Versuche angestellt und constatirt, dass auch dieses Keton von Hunden und Kaninchen theilweise als Aetherschwefelsäure, theilweise mit Glycuronsäure gepaart, ausgeschieden wird. Von Hunden wurde das Gallacetophenon in Dosen von 2 bis 4 g pro Tag gut vertragen. Pyrogallolcarbonsäure konnte in dem Harn nicht nachgewiesen werden, obgleich die Isolirung der Säure durch Extraction des angesäuerten Harnrückstandes mit Aether oder Essigäther leicht gelingen müsste.

Aus unseren Versuchen geht also hervor, dass, sobald ein aromatisches Keton freie Hydroxyle enthält, wodurch die Möglichkeit einer Paarung mit Schwefelsäure oder Glycuronsäure gegeben ist, eine Oxydation der in ihm enthaltenen Seitenkette im Thierkörper nicht mehr stattfindet. Das Acetophenon wird zu Benzoësäure oxydirt. Resacetophenon und die anderen Oxyketone werden nicht oxydirt, sondern als Paarlinge der beiden genannten Verbindungen ausgeschieden. Gleich wie die Oxyketone werden voraussichtlich auch ihre Ester vom Thierkörper ausgeschieden. Ist noch ein Hydroxyl frei, wie z. B. in dem Paeonol (Methylresacetophenon), dann findet nur einfache Paarung mit Schwefelsäure und Glycuronsäure statt. Sind alle Hydroxyle durch Alkyle ersetzt, so dürfte eine Hydroxylirung im Benzolkern der Paarung mit der Schwefelsäure resp. Glycuronsäure vorausgehen. Directe Hydroxylirung aromatischer Verbindungen im Thierkörper, wie z. B. des Benzols und anderer aromatischer Kohlenwasserstoffe, ist schon lange bekannt. Am o-Oxycarbanil habe ich diese Hydroxylirung im Thierkörper gezeigt[2]), und so auf physiologischem Wege bewiesen, dass diesem Körper nicht die Lactim- $\left(C_6H_4<^{N}_{O}>C(OH)\right)$, sondern die Lactamformel $\left(C_6H_4<^{NH}_{O}>CO\right)$ zukommt.

Ueber die Stellung der Seitenketten in den Ketonen aus Pyrogallol

von

M. Nencki.

Ber. 27, 2737. — Eingegangen am 6. October; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn A. Pinner.

Den zwei stellungsisomeren Carbonsäuren des Pyrogallols — der Gallussäure und der Pyrogallocarbonsäure — entsprechen zwei isomere Gallacetophenone. In der vorangehenden Mittheilung habe ich für das von uns dargestellte Gallacetophenon das Acetyl als dem Hydroxyl benachbart angenommen. Schon gelegentlich der

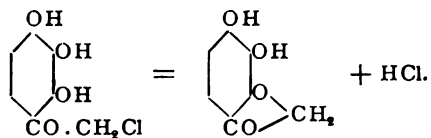
[1]) Therapeutische Monatsh. 1891, Septemberheft. — Dieser Band S. 226.

[2]) Wiener Monatshefte f. Chem. 11, 253. — Dieser Band S. 152.

ersten Arbeit über Oxyketone aus Fettsäuren und Phenolen haben wir, jedoch ohne Erfolg, durch Oxydation der Ketongruppe zu Carboxyl die entsprechenden Carbonsäuren darzustellen versucht, um so die relative Stellung der eingetretenen Acetyle zu ermitteln. Bezüglich des Resacetophenons haben inzwischen v. Pechmann und Duisberg[1]) gezeigt, dass das Acetyl zu den beiden Hydroxylen in der ortho-para-Stellung sich befindet. Was das Gallacetophenon betrifft, so habe ich zwei Thatsachen ermittelt, welche dafür sprechen, dass sowohl in dem Gallacetophenon, dem Chlorgallacetophenon als auch dem Gallobenzophenon (Trioxybenzophenon aus Pyrogallol und Benzoësäure) die Seitenketten dem Hydroxyl benachbart sind, d. h. die gleiche Stellung einnehmen wie das Carboxyl in der Pyrogallolcarbonsäure.

Die zuerst von Sennhofer und Brunner dargestellte Pyrogallolcarbonsäure giebt in kalter conc. Schwefelsäure gelöst mit Spuren von Salpetersäure charakteristische violette Färbung. Die gleiche Reaction geben das Gallacetophenon, das Chlorgallacetophenon und das Gallobenzophenon. Zweckmässig ist es, stark verdünnte Lösungen anzuwenden. Ein Theil des Ketons wird in 10000 Theilen conc. Schwefelsäure gelöst und mit einigen Tropfen conc. Schwefelsäure, die minimale Mengen Salpetersäure enthält, versetzt. Conc. Schwefelsäure, die $^1/_{100000}$ Kaliumnitrat enthielt, färbte sich bei Zusatz der Ketonlösung noch schön violett, so dass diese Reaction zur Entdeckung von Spuren von Salpetersäure in Schwefelsäure verwendet werden kann. Gallussäure und Gerbsäure in gleicher Weise behandelt, werden nicht violett, sondern braunroth gefärbt.

Eine zweite Thatsache, die dafür spricht, dass in den genannten Ketonen das Säureradical die dem Hydroxyl benachbarte Stellung einnimmt, ist das Verhalten des Chlorgallacetophenons beim Kochen mit Calciumcarbonat. Unter Abspaltung von Salzsäure geht das Chlorketon in das Anhydroglycogallol über, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H(OH)(OH)(OH)(CO.CH_2Cl) = C_6H(OH)(OH)\left<\begin{matrix}O\\CO\end{matrix}\right>CH_2 + HCl.$$

Chloracetopyrocatechon, $C_6H_3(\overset{1}{O}H)(\overset{2}{O}H)(CO\overset{4}{C}H_2Cl)$, in welchem das Chloracetyl die para-meta-Stellung zu den Hydroxylen einnimmt, giebt keine dem Anhydroglycogallol analoge Verbindung, offenbar weil die Chloracetylgruppe zu keinem der beiden Hydroxyle in der ortho-Stellung sich befindet. Es bestätigt sich also auch hier die bekannte Thatsache, dass in den substituirten Benzolderivaten der neue Substituent vorzugsweise die vacante Parastellung einnimmt.

[1]) Ber. **16**, 2123.

Studien über das Chlor und die Halogene im Thierkörper

von

M. Nencki und **C. Schumow-Simanowski.**

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **34**, 313. — Arch. des sciences biolog. **3**, 191. — Gazeta Lekarska Nr. 23 (1894).

Die nachfolgenden Untersuchungen bilden die Fortsetzung der kürzlich von einem von uns publicirten Arbeit „Ueber den Magensaft und das Pepsin bei Hunden“[1]). Es wurde dort gezeigt, in Bestätigung der früheren Versuche von Maly[2]), dass, wenn einem Hunde durch die Magenfistel 300 bis 400 ccm Magensaft und damit 1.5 bis 2 g Salzsäure entzogen werden, aus dem Harne solcher Hunde nicht allein alles Chlor verschwindet, sondern der Harn stark alkalisch wird und der Gehalt an Kali, namentlich aber an Natron bis auf das Zehnfache steigt. Diese Thatsache wurde schon dort als ein sprechender Beweis dafür angesehen, dass in der Magenschleimhaut das Kochsalz in Alkalihydroxyd und freie Salzsäure zerlegt werde.

Ein weiterer Beweis dafür liegt in den Versuchen von Grützner[3]), sowie den späteren von Hayem und Winter, wonach in ruhendem Zustande, vor Beginn der Saftsecretion, die Magenschleimhaut mehr Kochsalz enthält, als während derselben. Wir haben die Versuche der oben genannten Autoren wiederholt und ihre Angaben bestätigt, wenn auch die gefundene Differenz nicht sehr gross war. Möglichst gleich grosse und gleich genährte Hunde wurden ausgewählt; der eine nach zweitägigem Hungern, der andere drei Stunden nach reichlicher Fleischmahlzeit getödtet; sodann von beiden ein abgewaschenes und abgewogenes Quantum der herauspräparirten Schleimhaut bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet, dann verascht und darin der Gehalt an Chlorkalium und Chlornatrium als Platindoppelsalze bestimmt. Das Ergebniss war folgendes:

Hund Nr. I. 10.5 kg schwer, erhält 820 g Fleisch und wird drei Stunden später getödtet. Gefunden in 100 Theilen trockener Magenschleimhaut 0.2073 g ClK und 0.504 g ClNa = 0.7113 g ClK + ClNa.

Hund Nr. II. 10.2 kg schwer, hungert 50 Stunden und wird darauf getödtet. Gefunden in 100 Theilen trockener Magenschleimhaut 0.1526 g ClK und 0.5878 g ClNa = 0.7404 g ClK + ClNa.

Durch welche chemische oder physikalische Vorgänge diese Spaltung des Kochsalzes in der Magenmucosa geschieht, wissen wir nicht sicher. Vor mehr als 50 Jahren sagte Gustav Valentin[4]): „Die Mittelbrücke zwischen Blut und Ernährungs-

---

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **33**, 336. — Dieser Band S. 379.

[2]) Ann. Chem. Pharm. **173**, 228 (1874).

[3]) Neue Untersuchungen über die Bildung und Ausscheidung des Pepsins. S. 52. Breslau 1875.

[4]) Wagner's Handwörterbuch d. Physiologie **1**, 17. Braunschweig 1842.

flüssigkeit einerseits und speciellem Absonderungsproducte andererseits auszufüllen, bleibt bis jetzt fast ausschliesslich theoretischen Vorstellungen überlassen." Streng genommen hat dieser Ausspruch auch heute noch seine Gültigkeit. Die geistreichen Versuche Maly's, welcher zeigte, dass durch Einwirkung von Milchsäure auf Kochsalz oder von Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat auf Kochsalz freie Salzsäure entsteht, oder auch die Massenwirkung von Kohlensäure auf Kochsalz, worauf Bunge aufmerksam machte, genügen nicht zur Erklärung der Entstehung dieser Säure in der Magenschleimhaut. Wir glauben, dass von physikalischer Seite her Untersuchungen über das elektromotorische Verhalten der Magenschleimhaut im ruhenden und thätigen Zustande, die seit der Arbeit von J. Rosenthal[1]) erst vor Kurzem im Laboratorium von Biedermann[2]) in Jena wieder aufgenommen wurden, wichtige Aufschlüsse hierüber bringen können. Aus der oben citirten Arbeit des einen von uns schliessen wir, dass bei der Salzsäurebildung das Eiweiss der Magensaftdrüsen einen activen Antheil hat. Es wurde dort gezeigt, dass das aus dem Magensaft durch die Kälte körnig abgeschiedene Pepsin Chlor in seinem Molekül enthält. Lässt man ferner den reinen Magensaft von Hunden bei 0° ruhig stehen, so trübt er sich, und es setzt sich, wie dort gezeigt, am Boden des Gefässes das Pepsin körnig ab; dabei fanden wir, dass der Säure- und Chlorgehalt von oben nach unten zunimmt (dieser Band S. 381). Dieser einfache und von Jedermann leicht anzustellende Versuch zeigt deutlich, dass das zu Boden sinkende, aus Eiweiss bestehende Pepsin das Chlor mit sich fortreisst, offenbar weil es dasselbe chemisch gebunden enthält. Uebrigens enthielt das getrocknete und dann mit Alkohol bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrate ausgewaschene, sowie das mit Ammoniumsulfat ausgesalzene Pepsin durchschnittlich 1 Proc. Chlor.

Wenn das Chlor aber ein nothwendiger Bestandtheil des Pepsins ist, so drängt sich die Frage auf, wie diese Thatsache mit den Resultaten der Arbeiten Heidenhain's sich deckt. Die Fundusdrüsen enthalten die Haupt- und die Beleg-(Lab-)zellen. Namentlich auf Grund der Arbeiten Heidenhain's wird, wenigstens für die Magenschleimhaut der höheren Säugethiere, angenommen, dass die Hauptzellen das Pepsin, die Labzellen die Salzsäure bilden. Ist diese Arbeitstheilung richtig, so müsste das von den Hauptzellen abgesonderte Pepsin sich erst, bevor es den Drüsenschlauch verlässt, mit der von den Labzellen abgesonderten Salzsäure oder Eiweisssalzsäure verbinden. Das von der Portio pylorica, wo in den Drüsenschläuchen keine Labzellen vorhanden sind, abgesonderte Pepsin müsste chlorfrei sein und daher verschieden von dem Pepsin, das aus dem Fundussafte durch Abkühlen auf 0° oder durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat erhalten wird. Gegen die Arbeitstheilungstheorie Heidenhain's sind wiederholt Einwände, so in der letzten Zeit von Klug[3])

[1]) Ueber das elektromotorische Verhalten der Froschhaut. Reichert's und Du Bois-Reymond's Archiv, Jahrg. 1865.

[2]) F. Bohlen, Ueber die elektromotorischen Wirkungen der Magenschleimhaut. Pflüger's Archiv **57**, 97 (1894).

[3]) Maly's Jahresber. **21**, 239 u. 266. Nach Klug's Untersuchungen bereiten die einzigen morphologisch den Belegzellen des Säugethiermagens entsprechenden Zellen des Vormagens der Vögel sowohl Salzsäure als auch Pepsin.

erhoben worden. In der Thatsache, dass das fertige Pepsin Chlor enthält, liegt kein directer Widerspruch gegen die Ansicht Heidenhain's; nur wäre das Secret der Hauptzellen kein eigentliches fertiges Pepsin und die Frage, wie aus den Secreten der Haupt- und Belegzellen das chlorhaltige Pepsin entsteht, eine offene.

Wie das von der Mucosa auf die Oberfläche getriebene Pepsin theils locker, theils fester gebundene Salzsäure enthält, so wird sehr wahrscheinlich auch das aus dem Kochsalz abgespaltene Alkali in dem von den Drüsen abfliessenden venösen Blute an Eiweiss gebunden. Geschieht diese Spaltung des Chlornatriums in Salzsäure und Alkalihydroxyd in der Magenschleimhaut, so ist die Frage naheliegend, wie sie sich gegen andere, dem Kochsalz nahe verwandte Salze, z. B. das Bromnatrium und Jodnatrium, verhält. Diese Frage hat vor mehr als 16 Jahren Charles Richet[1]) gestellt und zu beantworten versucht. Ueber das Ergebniss seines hierauf bezüglichen Versuches sagt Richet Folgendes: „En terminant je noterai un essai expérimental qui peut être rapporté, quoiqu'il m'ait malheureusement donné des résultats négatifs. Espérant remplacer, au moins en partie, l'acide chlorhydrique de l'estomac par l'acide bromhydrique, je donnai, pendant dix jours à un jeune chien, environ douze grammes par jour de bromure de sodium. L'animal étant très affaibli, cette alimentation bromurée fut cessée brusquement et remplacée par du lait. Au bout de vingt-quatre heures l'animal fut sacrifié, mais ni dans l'estomac ni dans le suc gastrique, il n'y avait traces d'acide bromhydrique ou même de bromures. Je me propose de reprendre cette expérience en modifiant les conditions expérimentales."

Acht Jahre später wiederholte Prof. Külz in Marburg[2]) diesen Versuch. Um BrH resp. JH neben ClH nachzuweisen, benutzte er die Chininmethode von Rabuteau. Der Saft von Hunden wurde mit Chinin versetzt und damit bis zur neutralen Reaction auf 50 bis 60° erwärmt; das zum Syrup eingeengte Filtrat mit Chloroform ausgezogen, das Chloroform verdunstet, der Rückstand gepulvert und analysirt. Aus dem Chlorbromsilber wurde das Brom im Chlorstrome verjagt und daraus der Gehalt an BrH berechnet. Nach Fütterung mit Bromnatrium enthielt der Chininrückstand 4.28 Proc. HCl und 4.38 Proc. HBr. In einem zweiten Versuche kamen auf 3.45 Proc. HCl 13.57 Proc. HBr. Nach Bromkalium enthielt der Chininrückstand 1.99 Proc. HCl und 5.23 Proc. HBr. Nach Jodkalium waren im Chininrückstand einmal 4.57 Proc. HCl und 0.44 Proc. HJ; ein zweites Mal auf 5.78 HCl 0.15 Proc. HJ.

Der Widerspruch in den Resultaten von Richet und Külz, dann aber auch der Wunsch, zu erfahren, wie lange und in welcher Menge Bromwasserstoffsäure im Magensaft auftreten wird, veranlassten uns, diese Versuche zu wiederholen. Wir wollen gleich hier bemerken, dass wir die von Külz erhaltenen Resultate bestätigt und erweitert haben. Gerade aber der letztere Umstand hat unserer Arbeit eine ganz andere, anfänglich nicht beabsichtigte Richtung gegeben.

Der erste Versuch zeigte uns, dass eine vollständige Entziehung von Kochsalz und Ersatz desselben durch Bromnatrium in der Nahrung nicht zum Ziele führt. Die

[1]) Journal de l'anatomie et de physiologie publié par Ch. Robin et P. Pouchet, 1878, p. 326.

[2]) Zeitschr. f. Biologie **23**, 460 bis 474 und Maly's Jahresber. **16**, 246.

Hunde vertragen auf die Länge das nicht. Der werthvolle Hund, der einem von uns zu der Arbeit „Ueber den Magensaft und Pepsin" diente, erkrankte dabei an Magenkatarrh, grosser Schwäche, Albuminurie und ging, wie die Section zeigte, an Pneumonie zu Grunde. Wir wiederholten den Versuch zunächst mit Bromnatrium an einem grossen starken Hunde von 33 kg Körpergewicht, an welchem jetzt vor drei Jahren Prof. Pawlow Magenfistel und Oesophagotomie gemacht hat und der seither als ständiger Lieferant für Magensaft im Laboratorium diente. Der Hund erhielt täglich durch die Magenfistel 820 g kleingehacktes Fleisch und 410 g kleingeschnittenes Weizenbrot, das speciell für den Zweck ohne Kochsalz gebacken wurde. Durch den Oesophagus erhielt er ferner mittelst Schlundsonde 1800 ccm Milch und 600 ccm Wasser. Kochsalz erhielt also der Hund nur so viel, als es in dem frischen Rindfleische und der nicht abgerahmten Milch enthalten war, welche Menge durchschnittlich 2.24 g Chlor pro die betragen würde[1]. Das intelligente und sorgfältig gepflegte Thier war daran gewöhnt, den Harn in ein untergehaltenes Gefäss zu lassen.

Bei diesem Futter erhielt der Hund im Laufe von 14 Tagen 53 g Bromnatrium; Anfangs 2 g täglich, dann in steigender Dose an den letzten Tagen je 6 g mit dem Fleische zusammen. Das Thier wurde Anfang der zweiten Woche schläfrig, matt, und als es nach 14 Tagen kaum stehen konnte, wurde der Versuch unterbrochen. Zum ersten Mal erhielt das Thier Bromnatrium am 22. Januar, zum letzten Mal am 6. Februar. Der Magensaft wurde jeden zweiten oder dritten Tag gesammelt und darin Chlor und Brom bestimmt; ebenso von Zeit zu Zeit im Harne. Wenige Tage nach Aufhören mit der Bromnatriumfütterung erholte sich der Hund rasch und ist bis auf den heutigen Tag vollkommen gesund. Bevor wir jedoch das Ergebniss unserer Versuche mittheilen, ist es zweckmässig, die von uns zur Bestimmung von Br resp. J neben Chlor angewendeten analytischen Methoden kurz zu beschreiben.

Um Brom resp. Jod neben Chlor im Magensafte und Harne zu bestimmen, mussten wir auf eine wenig Zeit erfordernde und doch genaue Methode bedacht sein. Nach mehreren Versuchen sind wir für Brombestimmung bei der von Dr. E. Berglund[2] vorgeschlagenen und von uns etwas modificirten Methode zu guten Resultaten gelangt. Dieselbe beruht auf dem Princip, dass eine Mischung von saurem Kaliumsulfat und Kaliumpermanganat, einer Lösung von Bromid beigemischt, alles Brom freimacht, während dieselbe Mischung gar keinen Einfluss auf das Chlorid hat. Das freigemachte Brom kann leicht und vollständig vermittelst eines Luft- oder Kohlensäurestromes aus der Lösung ausgetrieben werden. Berglund fängt das entweichende Brom in Kalilauge auf, zerstört das entstandene Hypobromid mit etwas Ammoniak und fällt das Bromkalium nach dem Ansäuern mit Silbernitrat aus. Wir haben es zweckmässiger gefunden, das Bröm in einer 10 proc. Jodkaliumlösung aufzufangen und die der freigewordenen Brommenge äquivalente Menge Jods mit Natriumhyposulfit zu titriren ($2\,Na_2S_2O_3 + J_2 = Na_2S_4O_6 + 2\,NaJ$). Wir benutzten den von Berglund (l. c. S. 188) abgebildeten Apparat, nur wurde das

[1] Ein Liter Milch enthält durchschnittlich 0.976 g Chlor. Im Mittel enthält das Fleisch 1.3 Proc. Asche und darin 0.06 g Chlor.

[2] Zeitschr. f. analytische Chemie **24**, 184 (1885).

Brom nicht durch Luft, sondern durch Kohlensäure ausgetrieben. 10 ccm des zuvor mit NaOH genau neutralisirten Magensaftes wurden in dem Kölbchen mit 15 ccm der 10proc. sauren Kaliumsulfatlösung vermischt, hierauf aus der Standflasche die erforderliche Menge der 2proc. Kaliumpermanganatlösung hinaufgetrieben und das im Kohlensäurestrome entweichende Brom in Jodkalium aufgefangen. Hinter dem Will-Varrentrapp'schen Apparate wurde noch ein Reagensröhrchen mit Jodkaliumlösung angebracht. Die geringste Gelbfärbung der Lösung würde den Uebertritt des Broms anzeigen, was auch als Controle für die vollständige Uebertreibung des Broms beim Wechseln der Jodkaliumlösung im Kugelapparate dient.

Nach vollständiger Verjagung des Broms wurde im Kölbchenrückstand zunächst das Kaliumpermanganat durch Erwärmen mit etwas Alkohol auf dem Wasserbade zerstört, mit CO_3Ca neutralisirt, filtrirt, nachgewaschen und im Filtrate das Chlor entweder gravimetrisch oder durch Titriren mit $^1/_{10}$-Normalsilberlösung bestimmt. In einzelnen Versuchen wurde der neutralisirte Magensaft erst verascht und dann in der Asche das Brom und Chlor bestimmt. Der Unterschied in den erhaltenen Zahlen war so gering, dass beim Magensaft die Veraschung wegfallen konnte (durchschnittlich im nicht veraschten Magensafte erhielten wir 0.01 Proc. weniger Cl resp. Br, als nach der Veraschung). Bei der Br- und Cl-Bestimmung im Harne war die Veraschung unvermeidlich. Um die Methode zu controliren, wurden Brom und Chlor einerseits nach der Berglund'schen Methode, andererseits nach dem von Fresenius (dessen quantitative Analyse §§ 169 und 200 c.) angegebenen Verfahren bestimmt. Zu dem Zwecke wurden 50 bis 100 ccm genau abgemessenen Magensaftes mit Silbernitrat vollkommen ausgefällt, der Niederschlag abfiltrirt, getrocknet und sodann sammt Filter, in zugeschmolzenem Rohre, Anfangs drei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt und nach Herauslassen der Gase noch fünf Stunden lang auf 200° erhitzt. Das jetzt erhaltene reine AgCl + AgBr wurde nach dem Trocknen gewogen, dann in einem Kugelrohr im Chlorstrome geschmolzen, nach dem Erkalten zurückgewogen und aus dem Gewichtsverlust der Gehalt an Cl und Br berechnet. So ergab der Magensaft vom 31. Januar titrimetrisch 0.295 Proc. HBr und 0.434 Proc. HCl.

Nach der Verdrängungsmethode im Chlorstrome wurden im gleichen Safte gefunden 0.2840 Proc. Bromwasserstoff und 0.4211 Proc. Chlorwasserstoff.

Im Saft vom 7. Februar wurde titrimetrisch gefunden 0.487 Proc. BrH und 0.324 Proc. HCl. Im Chlorstrome 0.4972 Proc. BrH und 0.380 Proc. ClH.

Im Saft vom 16. Februar wurde titrimetrisch gefunden 0.237 Proc. BrH und 0.457 Proc. ClH. Im Chlorstrome 0.2452 Proc. BrH und 0.491 Proc. ClH.

Wie man sieht, ist die Uebereinstimmung nach beiden Bestimmungsmethoden keine ganz scharfe und ist die Bestimmung aus dem Verlust im Chlorstrome wohl die genauere. Eine jede solche Bestimmung dauert aber zwei Tage und wäre also für unseren Zweck nicht anwendbar. Eine titrimetrische Chlor- und Brombestimmung nach Berglund ist in wenigen Stunden beendet, und wie der Vergleich der beiden Zahlen zeigt, giebt sie für unsere Zwecke mit der ersten Methode hinreichend übereinstimmende Zahlen.

Um das Jod neben Chlor zu bestimmen, haben wir uns der Methode von

Ernest H. Cook[1]) bedient. Das Verfahren beruhte auf dem Principe, dass aus einer Lösung, welche Jod-, Brom- und Chloralkalien enthält, durch Zusatz von überschüssiger Essigsäure und Wasserstoffsuperoxyd nur Jod, nicht aber Brom oder Chlor frei wird. Zur quantitativen Bestimmung lässt man die Mischung etwa eine Stunde stehen, bis alles Jod ausgeschieden, extrahirt das Jod vollkommen mit Chloroform, hebt die Chloroformschicht sorgfältig ab, wäscht mit wenig Wasser völlig frei von Wasserstoffsuperoxyd und titrirt das Jod mit Natriumhyposulfid. In einer anderen Portion des reinen Saftes resp. der Harnasche wurde J + Cl bestimmt und nach Abzug des gefundenen Jods aus der Differenz der Chlorgehalt berechnet. Man kann auch in der wässerigen Lösung nach Entfernung des Jods das Chlor durch Fällung mit Silbernitrat bestimmen. Zu beachten ist nur dabei, dass das käufliche Wasserstoffsuperoxyd häufig chlorhaltig ist. Es kann jedoch mit Vortheil durch das jetzt ebenfalls im Handel vorräthige Natriumsuperoxyd ersetzt werden. Das von de Haen in List bei Hannover bezogene Natriumsuperoxyd war völlig chlorfrei. Controlbestimmungen, wobei wiederum das Jod durch Schmelzen im Chlorstrome verdrängt wurde, ergaben uns in zwei Bestimmungen folgende Zahlen: Magensaft vom 10. Mai enthielt titrimetrisch 0.028 Proc. JH und 0.60 Proc. ClH.

Aus dem Verluste im Chlorstrome berechnet enthielt derselbe Saft 0.0252 Proc. JH und 0.5827 Proc. ClH.

Magensaft vom 16. Mai enthielt titrimetrisch 0.028 Proc. JH und 0.601 Proc. ClH. Im Chlorstrome bestimmt wurde gefunden 0.027 Proc. JH und 0.5982 Proc. ClH.

Die Bromausscheidung, wie aus weiter unten mitzutheilender Tabelle ersichtlich, dauerte bei unserem Hunde länger als vier Monate. Wir haben daher am gleichen Hunde im Laufe des Monats Mai uns überzeugen wollen, ob bei Verabreichung von SO_4Na_2 nicht etwa freie Schwefelsäure im Magensafte auftreten werde. Der Versuch zeigte, dass danach keine Spur weder freie Schwefelsäure, noch schwefelsaures Salz im Magensaft enthalten war. Der Hund erhielt innerhalb 12 Tagen 70 g SO_4Na_2.

Zu den Versuchen mit Jodnatrium diente uns ebenfalls ein Hund von 24 kg Körpergewicht mit Magenfistel und durchschnittenem Oesophagus. Er bekam täglich durch die Magenfistel 1100 g kleingehacktes Fleisch und mit der Schlundsonde 1200 ccm nicht abgerahmte Milch. Auch dieser Hund war abgerichtet, den Harn in ein untergehaltenes Glas zu lassen. Obgleich er innerhalb zwei Wochen 73 g Jodnatrium erhielt und in den letzten Tagen selbst in Dosen von 8 g täglich, zeigte er im Gegensatz zu dem Bromnatriumhunde nicht die geringste Störung seines Wohlbefindens, nahm im Gegentheil während des Versuches etwas mehr als 1 kg an Gewicht zu und ist noch heute vollkommen gesund.

In folgenden zwei Tabellen sind die Resultate unserer Versuche zusammengestellt.

---

[1]) Chem. Society 1885, S. 471 und Ber. **18**, 579. Ref.

Tabelle I.

BrH und ClH im Magensaft und im Harne nach Eingabe von Bromnatrium.

Datum	Magensaft		Harn		Bemerkungen
	HBr Proc.	HCl Proc.	HBr Proc.	HCl Proc.	
19. bis 21./1.	—	0.527	—	—	Am 22. Jan. erhält der Hur BrNa; ebenso die folgenden Ta aufsteigender Dosis bis zum 6. wo der Hund zum letzten M BrNa bekommt. Im Ganzen e der Hund 53 g BrNa. Am 31. bekam der Hund kein BrNa.
24.	0.068	0.507	—	—	
26.	0.144	0.499	—	—	
28.	0.196	0.573	0.001	0.004	
31.	0.295	0.434	0.018	0.008	
2./2.	0.249	0.385	0.003	0.01	
4.	0.402	0.364	0.015	0.025	
7.	0.487	0.324	0.02	—	
14.	0.268	0.499	0.008	0.026	
16.	0.237	0.457	0.007	0.032	
19.	0.193	0.536	0.027	0.09	
24.	0.144	0.549	0	0.005	Vom 24. Febr. bis zum 20. erhält der Hund mit seiner Nah 3 g Kochsalz täglich. Der Aschegehalt im Magen vom 31. Jan. war = 0.1174 P Vom 19. Febr. = 0.089 Proc.
26.	0.114	0.503	0	—	
3./3.	0.074	0.499	0.002	—	
5.	0.074	0.476	0	—	
7.	0.048	0.566	0.004	—	
10.	0.048	0.524	0.002	—	
14.	0.023	0.587	0.023	—	
18.	0.026	0.524	0	0.249	
22.	0.02	0.608	0.002	—	
29.	0.015	0.642	0	0.153	
2./4.	0.019	0.617	0	—	
5.	Spuren	0.599	0	—	
8.	0.086	0.55	—	—	
13.	0.002	0.64	—	—	
16.	0.055	0.56	—	—	
20.	0	0.66	—	—	
25.	0	0.62	Spuren	—	
29.	0.018	0.58	Spuren	—	
3./5.	0	0.61	—	—	Am 4. und 5. Mai erhält der H je 2 g SO_4Na_2; am 6. und 7. je am 8. und 9. je 5 g; am 10. 6 g 11. nichts; am 12., 13. und 14. je am 15. und 16. je 8 g und an 7 g. Im Ganzen erhielt der 72 g SO_4Na_2. Der Magensaft während der Zeit frisch oder Kochen enteiweisst nicht die geri Trübung mit $BaCl_2$. Der eiweis Harn enthält sehr viel Schwefel und unterschweflige Säure. Chlo im Harne immer vorhanden.
5.	0	0.62	—	—	
6.	—	—	—	—	
7.	—	—	—	—	
8.	—	—	—	—	
9.	0	0.62	—	—	
10.	—	—	—	—	
11.	—	—	—	—	
12.	—	—	—	—	
13.	0	0.63	—	—	
14.	—	—	—	—	
15.	—	—	—	—	
16.	0	0.63	0.002	—	
17.	Spuren	0.62	—	—	
20.	0	0.61	—	—	
30.	0	0.61	—	—	

Tabelle II.

JH und ClH im Magensaft und im Harne nach Eingabe von Jodnatrium.

Datum	Menge des entnommenen Magensaftes in ccm	Säuregrad des Saftes in Proc.	ClH Proc. im Magensafte	JH Proc. im Magensafte	Harnmenge in 24 Stund. in ccm	JH Proc. im Harne	ClH Proc. im Harne	Bemerkungen
27./4.	64	0.41	0.62	—	—	—	0.29	Am 4. u. 5. Mai erhält d. Hund je 2 g JNa; am 6. u. 7. je 4 g; am 8. u. 9. je 5 g; am 10. 6 g; am 11. nichts; am 12., 13. u. 14. je 7 g; am 15., 16. u. 17. je 8 g; von da ab kein JNa mehr. Im Ganzen erhielt der Hund 73 g JNa. Am 10. Mai enthielt der Harn Spuren von Eiweiss; der Magensaft war schwach braun gefärbt und enthielt Spuren von freiem Jod.
3./5.	45	0.46	0.63	—	—	—	0.12	
4.	—	—	—	—	—	—	—	
5.	30	0.38	0.62	0.021	1150	0.037	0	
10.	250	0.48	0.60	0.028	1200	0.274	0.096	
12.	160	0.51	0.63	0.03	1100	0.107	—	
14.	145	0.5	0.62	0.03	720	0.47	—	
16.	140	0.5	0.601	0.028	1000	0.45	—	
18.	130	0.48	0.62	0.03	1040	0.4	—	
21.	150	0.49	0.64	0.009	1050	0.013	0.085	
23.	200	0.49	0.60	0	1050	0.003	0.067	
25.	50	0.5	0.64	0	1390	0	0.078	
27.	70	0.49	0.61	0	1330	0	0.1	

Am 18. Mai enthält der Magensaft Spuren von freiem Jod. — Im Magensafte vom 10. und 16. Mai wurde der Aschegehalt bestimmt. — Im Safte vom 10. war er = 0.1535 Proc.; im Safte vom 16. = 0.108 Proc.

Die Resultate dieser Versuche waren für uns überraschend. Sie bestätigen zunächst die Angaben von Külz, welcher nach Fütterung seines Hundes mit Bromnatrium im Magensafte bedeutend mehr freie Bromwasserstoffsäure fand, als freie Jodwasserstoffsäure nach Fütterung mit Jodkalium. Die von uns erhaltenen Jodmengen sind kleiner als der Aschegehalt des Saftes, so dass man annehmen könnte, das Jod sei in den Saft als JNa aus dem Blute diffundirt. Gegen diese Annahme spricht der Versuch mit Natriumsulfat, wo trotz der grossen Menge von SO_4Na_2, die der Hund in seinem Blute enthalten musste, in dem Magensafte keine Spur von Schwefelsäure nachzuweisen war.

Worauf der negative Befund von Ch. Richet beruht, wissen wir nicht zu sagen. Aus unseren Tabellen geht hervor:

1. HCl kann in der That durch HBr im Magensafte vertreten werden und in sehr geringem Maasse auch durch HJ. Wir haben wiederholt, so im Magensaft vom 31. Januar und vom 19. Februar, ausser Brom und Chlor auch den Aschegehalt bestimmt. Der Aschegehalt betrug durchschnittlich 0.1 Proc., so dass, selbst wenn die Asche nur aus Bromnatrium bestände, der Gehalt an Brom diese Zahl mehrfach überstiege. Wie die qualitativen Proben zeigten, enthielt aber die Asche ausser den Halogenen noch Phosphorsäure und an Basen ausser Natrium und Kalium noch Calcium, Magnesium und Eisen. An einzelnen Tagen, so am 4. und 7. Februar, enthielt sogar der Saft mehr Brom als Chlor.

2. Der Säuregrad im Magensafte des Hundes, der BrNa bekam, betrug durchschnittlich mit geringen Schwankungen 0.5 Proc., auf ClH bezogen[1]). Wenn wir an dem Tage, wo der Hund die grösste Menge BrH im Safte hatte, zu der darin vorhandenen ClH addiren, so erhalten wir einen bedeutend höheren Säuregehalt. So am 4. Februar 0.766 Proc., am 7. 0.811 Proc., am 14. 0.767 Proc. Diese Thatsache kann nur so erklärt werden, dass BrH nach dem Molekulargewichte ClH ersetzt. Das Molekulargewicht von BrH = 81 ist 2.2mal grösser als das von ClH = 36.5. Vor Kurzem machte Grützner[2]) darauf aufmerksam, dass die pharmakodynamische Wirkung verschiedener Arzneistoffe nicht nach ihrem absoluten, sondern nach ihrem Molekulargewichte verglichen werden solle. Unsere Beobachtung bestätigt die Richtigkeit dieser Forderung.

3. Die auffallendste Erscheinung ist das differente Verhalten des Bromnatriums und des Jodnatriums im Hundekörper. Zum letzten Male erhielt der Hund Bromnatrium am 6. Februar. Die grösste Menge Brom im Magensafte fanden wir am 7. und nachher dauerte das Auftreten von Br im Safte und im Harne, langsam abnehmend, fast vier Monate. Die gleichzeitige Brombestimmung im Magensafte und Harne zeigt, dass an verschiedenen Tagen Brom im Safte vorhanden ist, während er im Harne ganz fehlt. So am 24. und 26. Februar, am 5. und 18. März, am 2. April; dann ist selbst bei grossen Dosen Bromnatrium, die der Hund erhielt, die Menge der täglich im Harne ausgeschiedenen BrH eine äusserst geringe, während der Saft sehr viel BrH enthält. So enthält am 7. Februar der Magensaft in Procenten 24mal und am 14. 33mal mehr BrH, als der Harn. Analog verhält sich die Salzsäure, wovon z. B. am 14. 19mal mehr HCl im Safte, als im Harne enthalten ist. Diese Thatsache ist von besonderem Interesse. Kein Zweifel, dass der Körper des Hundes mit Bromnatrium überladen war. Niemand kann zweifeln, dass das Bromnatrium gleichwie das Chlornatrium zu den „harnfähigen“, d. h. zu solchen Substanzen gehört, welche in den Harn übergehen. Wenn eine Substanz im Harne nicht, oder nur in geringer Menge vorhanden ist, sind wir daher nicht berechtigt, vorauszusetzen, dass sie auch im Blute nur in geringer Menge vorhanden sein könne. Wir werden auf diese Frage anlässlich der Bemerkungen von E. Pick[3]) über Carbaminsäure im Blute und im Harne in einer späteren Arbeit noch einmal zurückkommen. Ganz anders verhält sich das Jod, wovon der Hund sogar grössere Dosen ohne Störung seines Wohlbefindens erhielt. Im Magensafte erscheinen nur minimale Mengen JH. Der Gehalt an ClH wird im Safte dadurch gar nicht beeinflusst, dagegen gehen grosse Mengen von Jod in den Harn über. Das letzte Mal erhielt der Hund am 17. Mai 8 g JNa, am 23. ist kein Jod mehr im Safte, und am 25. auch keines mehr im Harne. Wir haben noch zwei Wochen lang sowohl den Saft, als auch den Harn öfters auf Jod und stets mit negativem Resultate geprüft. An zwei Tagen, nämlich am 10. und 18. Mai, war der Saft ganz schwach braunroth gefärbt,

[1]) In unseren Tabellen ist der Gehalt an ClH und BrH etwas zu hoch angegeben, da hier das gesammte gefundene, also auch an Alkali gebundene Cl, resp. Br. als ClH und BrH berechnet wurde.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1893, Nr. 52.

[3]) Archiv f. exp. Path. und Pharm. **32**, 382 f.

direct mit Chloroform geschüttelt färbte er dasselbe deutlich violett. Es war also darin ausser JH auch freies J vorhanden.

Aus unseren Versuchen geht also hervor, dass, während Jodnatrium gleichwie das schwefelsaure Natrium wie ein fremder und für den Stoffwechsel nicht weiter verwerthbarer Körper aus dem Hundeorganismus bald ausgeschieden wird, das Bromnatrium, wenigstens bei unzureichender Kochsalzzufuhr, im Organismus zurückgehalten und als Kochsalzersatz verwerthet wird. Dabei ist es auffallend, dass gerade dieses Salz, und vielleicht auch deshalb, weil es für Kochsalz vicariirend eintritt, vom Hunde viel schlechter als das Jodnatrium oder schwefelsaure Natrium vertragen wird.

Die Thatsache, dass das Bromnatrium im Körper zurückgehalten und dann zeitweilig nach einzelnen Organen, wie in unserem Fall zur Bildung der Magensäure nach der Magenschleimhaut transportirt wird, machte es wünschenswerth, die Vertheilung des Broms in den einzelnen Organen zu ermitteln. War unsere Voraussetzung, dass das Bromnatrium im Organismus das Chlornatrium vertreten kann, richtig, so war zu erwarten, dass auch in der Vertheilung des Chlors und Broms in den einzelnen Organen ein Parallelismus bestehen wird. Bevor wir aber an die Ausführung dieses Versuches schreiten konnten, mussten wir über den normalen Chlorgehalt und die Schwankungen innerhalb physiologischer Grenzen der einzelnen Organe gesunder Hunde orientirt sein. Die Durchsicht der hierauf bezüglichen Literatur zeigte uns, dass für unseren Zweck brauchbare Angaben nicht vorhanden waren. Wohl finden sich zahlreiche Asche- und auch Chlorbestimmungen des Blutes und der Organe von Menschen und verschiedener Thiere; genaue Asche- und speciell Chlorbestimmungen der einzelnen Organe von einem und demselben Individuum, die wegen des Vergleiches allein für uns brauchbar waren, konnten wir nicht auffinden. Auf unsere Bitte hat nun Herr Dr. Bereskin unternommen, diese Lücke auszufüllen, und wir erlauben uns die Zahlen seiner sehr sorgfältigen Analysen hier mitzutheilen [1]).

Gesunde Hunde von 15 bis 30 kg Körpergewicht bekamen täglich als Nahrung 800 g Fleisch und 600 ccm Milch und wurden, bevor sie getödtet wurden, mindestens acht Tage lang bei dieser Diät gelassen. Man liess hierauf aus der herauspräparirten Arteria cruralis oder carotis die Hunde verbluten. Das aufgefangene Blut wurde defibrinirt zur Analyse verwendet. Da die Hunde stets nüchtern getödtet wurden, so war in allen fünf untersuchten Fällen der Magen leer und nur der Dünndarm mit einer geringen Menge eines breiartigen Inhalts angefüllt. Die drüsigen Organe wurden zur Analyse ohne Kapsel und ohne Adnexa genommen (nur das Parenchym), ebenso das Gehirn und das Rückenmark frei von den Häuten; die Haut (Corium) von Haaren rasirt und möglichst frei von Fett herauspräparirt, was natürlich nie vollständig geschehen konnte. Der Harn wurde nur auf dem Operationstische, entweder während des Anbindens des Thieres oder während der prämortalen Krämpfe gesammelt. Die Organe wurden frisch klein zerhackt, gewogen und hierauf bei 115 bis 120° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Bei der Veraschung wurde das trockene Gewebe mit etwa $^1/_{10}$ seines Gewichtes chlorfreiem, aus Marmor bereitetem, pulverigem Kalk überschüttet, was die Veraschung sehr erleichterte. Die Asche wurde mit

[1]) Inaug.-Dissert. Petersburg. (1894.)

heissem Wasser ausgezogen, filtrirt, nachgewaschen, das Filtrat auf das Volumen von 50 bis 100 ccm verdünnt, mit Salpetersäure angesäuert und mit Silbernitrat gefällt. Der grösseren Exactheit wegen wurden alle Bestimmungen nicht titrimetrisch, sondern durch Wägen ausgeführt. Die auf diese Weise an den Organen von fünf Hunden ausgeführten Analysen ergaben Herrn Dr. Bereskin folgende Zahlen:

Tabelle I.

Hund, 36.3 kg schwer.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Proc.-Gehalt des Organs		Gefundene Chlormenge in g	Chlorgehalt in Proc.		Bemerkungen
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser		der frischen Substanz	der trocknen Substanz	
Blut	39.97	13.0	21.67	78.33	0.1502	0.25	1.16	Alle Organe des Hundes waren normal.
Haut (Corium)	21.37	10.29	48.1	51.9	0.0359	0.167	0.35	
Lungen	19.19	4.35	22.7	77.3	0.0316	0.164	0.726	
Milz	34.00	7.78	22.8	77.2	0.0414	0.121	0.532	
Niere	45.02	10.75	23.9	76.1	0.0500	0.111	0.465	
Magenschleimhaut	39.22	8.01	20.4	79.6	0.0375	0.095	0.468	
Gehirn	55.36	11.89	21.5	78.5	0.0515	0.093	0.433	
Fett unter der Haut	23.56	17.92	75.1	24.9	0.0205	0.086	0.114	
Rückenmark	12.34	3.99	32.3	67.7	0.0055	0.044	0.137	
Muskel	34.55	8.75	25.4	74.6	0.0135	0.038	0.154	
Pankreas	43.41	13.97	32.2	67.8	0.0144	0.033	0.103	
Knochen	16.74	14.2	84.8	15.2	0.0053	0.031	0.04 (0.037)	
Knochenmark	20.22	18.09	89.4	10.6	0.0038	0.018	0.021	
Leber	54.35	16.24	29.8	70.2	0.0077	0.014	0.047	
Harn	250 ccm	—	—	—	0.3479	0.139	—	

Tabelle II.

Hund, 24 kg schwer.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Proc.-Gehalt des Organs		Gefundene Chlormenge in g	Chlorgehalt in Proc.		Gewicht des ganzen frischen Organs	Bemerkungen
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser		d. frischen Substanz	d. trocknen Substanz		
Blut	44.96	8.32	18.5	81.5	0.1055	0.235	1.269	—	Das Knochenmark und das Unterhautfettgewebe waren fast blutfrei. Die Lungen blutarm. Die Organe makroskopisch normal. Erhaltene Blutmenge = 1500 ccm.
Haut (Corium)	22.71	6.68	29.4	70.6	0.0336	0.148	0.567	—	
Lungen	21.32	4.19	19.6	80.4	0.0314	0.147	0.749	189	
Milz	38.68	8.99	23.2	76.8	0.0487	0.125	0.541	42	
Niere	36.20	7.87	21.7	78.3	0.0396	0.109	0.503	123	
Magenschleimhaut	33.56	6.75	20.1	79.9	0.0293	0.087	0.434	—	
Gehirn	46.14	9.33	20.2	79.8	0.0344	0.075	0.367	96	
Fett unter der Haut	36.94	27.53	74.5	25.5	0.0284	0.076	0.103	—	
Rückenmark	18.00	5.31	29.5	70.5	0.0084	0.046	0.158	33	
Knochen (compact)	18.57	16.28	87.6	12.4	0.0069	0.037	0.042	—	
Pankreas	27.63	7.72	28.6	71.4	0.0102	0.036	0.132	57	
Fett um die Nieren	38.49	32.28	83.8	16.2	0.0125	0.032	0.038	—	
Muskel	33.07	7.60	22.9	77.1	0.0091	0.027	0.119	—	
Leber	44.25	13.68	30.9	69.1	0.0108	0.024	0.078	600	
Knochenmark	17.88	17.05	95.3	4.7	0.0029	0.017	0.018	—	
Galle	19.66	4.26	21.6	78.4	0.0009	0.004	0.021	—	

Tabelle III.

Hund, 20.47 kg schwer.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Proc.-Gehalt des Organs		Gefundene Chlormenge in g	Chlorgehalt in Proc.		Gewicht des ganzen frischen Organs	Bemerkungen
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser		d. frischen Substanz	d.trocknen Substanz		
Blut	45.02	9.47	21.0	79.0	0.1241	0.275	1.310	—	Die Lungen
Lunge	16.80	3.69	21.9	78.1	0.0259	0.154	0.701	195	sind bedeu-
Niere	25.87	5.96	23.0	77.0	0.0358	0.138	0.600	112	tend blut-
Haut	15.66	6.70	42.7	57.3	0.0210	0.134	0.313	—	reicher, als
Gehirn	39.44	7.79	19.7	80.3	0.0482	0.122	0.618	90	wie im zweiten
Milz	27.40	5.83	21.2	78.8	0.0275	0.100	0.471	46	Versuch. Das
Magenschleimhaut	26.47	5.52	20.8	79.2	0.0254	0.096	0.460	—	Nierenfett und
Panniculus adipos.	27.07	18.04	66.6	33.4	0.0219	0.081	0.121	—	das Fett unter
Darmschleimhaut	15.03	3.01	20.0	80.0	0.0089	0.059	0.295	—	der Haut sind
Knochenmark	7.75	5.79	74.7	25.3	0.0039	0.050	0.067	—	durch Blut ge-
Pankreas	34.26	9.43	27.5	72.5	0.0154	0.044	0.163	55	färbt. Das
Rückenmark	13.90	4.18	30.0	70.0	0.0055	0.039	0.131	30	Knochenmark
Knochen	18.60	15.85	85.2	14.8	0.0057	0.031	0.035	—	ist sehr blut-
Muskel	20.44	4.90	23.9	76.1	0.0058	0.028	0.118	—	reich. Erhal-
Leber	38.42	11.74	30.5	69.5	0.0102	0.026	0.087	590	tene Blut-
Nierenfett	21.57	14.79	68.5	31.5	0.0051	0.023	0.034	—	menge =
Galle	14.14	2.68	18.9	81.1	0.0024	0.016	0.089	—	1400 ccm.
Harn	100 ccm	—	—	—	0.1299	0.129	—	—	

Tabelle IV.

Hund, 12.28 kg schwer.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Proc.-Gehalt des Organs		Gefundene Chlormenge in g	Chlorgehalt in Proc.		Gewicht des ganzen frischen Organs	Bemerkungen
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser		d. frischen Substanz	d.trocknen Substanz		
Blut	16.62	3.38	20.3	79.7	0.0470	0.283	1.390	—	Das Fett um
Haut	9.58	4.34	45.3	54.7	0.0138	0.144	0.317	—	die Nieren
Lungen	20.48	4.41	21.5	78.5	0.0277	0.135	0.628	109	zeigt erheb-
Niere	22.06	5.35	24.2	75.8	0.0301	0.132	0.562	53	liche Blutfül-
Milz	23.00	5.01	21.8	78.2	0.0233	0.101	0.465	32	lung, ebenso
Gehirn	28.09	5.76	20.5	79.5	0.0283	0.101	0.491	82	die Lunge;
Magenschleimhaut	20.35	4.20	20.6	79.4	0.0185	0.091	0.440	—	auch das
Panniculus adipos.	26.46	20.82	78.6	21.4	0.0165	0.062	0.079	—	Knochenmark
Pankreas	25.42	7.00	27.5	72.5	0.0147	0.057	0.210	40	ist blutreich.
Knochenmark	9.23	6.41	69.4	30.6	0.0049	0.053	0.076	—	Erhaltene
Rückenmark	11.34	3.21	28.3	71.7	0.0050	0.044	0.155	20	Blutmenge =
Caps. adip. renal.	26.31	22.11	84.0	16.0	0.0112	0.042	0.050	—	750 ccm.
Muskel	32.43	7.48	23.1	76.9	0.0130	0.040	0.173	—	
Darmschleimhaut	31.52	5.06	16.05	83.95	0.0115	0.036	0.226	—	
Knochen	14.26	12.26	85.9	14.1	0.0047	0.033	0.038	—	
Leber	32.18	9.77	30.3	69.7	0.0072	0.022	0.073	422	
Galle	9.68	1.67	17.2	82.8	0.0010	0.010	0.059	—	
Harn	30 ccm	—	—	—	0.0183	0.061	—	—	

Tabelle V.

Hund, 18.42 kg schwer.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Proc.-Gehalt des Organs		Gefundene Chlormenge in g	Chlorgehalt in Proc.		Gewicht des ganzen frischen Organs	Bemerkungen
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser		d. frischen Substanz	d. trocknen Substanz		
Blut	39.26	8.25	21.0	79.0	0.1165	0.296	1.412	—	Die Lungen enthalten ziemlich viel Blut. Erhaltene Blutmenge = 1050 ccm.
Lunge	21.83	4.83	22.1	77.9	0.0333	0.152	0.688	134	
Haut	15.51	6.51	41.9	58.1	0.0202	0.130	0.310	—	
Niere	21.43	5.05	23.5	76.5	0.0259	0.121	0.512	87	
Gehirn	29.21	6.03	20.6	79.4	0.0323	0.111	0.535	79	
Magenschleimhaut	20.47	4.04	19.7	80.3	0.0196	0.095	0.485	—	
Milz	17.98	3.95	21.9	78.1	0.0159	0.088	0.402	59	
Pankreas	18.77	—	—	—	0.0166	0.088	—	36	
Rückenmark	11.64	3.61	31.0	69.0	0.0051	0.043	0.141	20	
Darmschleimhaut	20.75	4.34	20.9	79.1	0.0055	0.026	0.126	—	
Leber	27.2	7.64	28.1	71.9	0.0107	0.039	0.140	481	

Zusammenstellung der fünf Tabellen über den Procentgehalt an Chlor in den frischen Organen.

Name des Organs	1.	2.	3.	4.	5.	Im Mittel
Blut	0.250	0.235	0.275	0.283	0.296	0.268
Lunge	0.164	0.147	0.154	0.135	0.152	0.150
Haut	0.167	0.148	0.134	0.144	0.130	0.145
Niere	0.111	0.109	0.138	0.132	0.121	0.122
Milz	0.121	0.125	0.100	0.101	0.088	0.107
Gehirn	0.093	0.075	0.122	0.101	0.111	0.100
Pannic. adipos.	0.086	0.076	0.081	0.062	—	0.076
Magenschleimhaut	0.095	0.087	0.096	0.091	0.095	0.093
Pankreas	0.033	0.036	0.044	0.057	0.088	0.051
Rückenmark	0.044	0.046	0.039	0.044	0.043	0.043
Leber	0.014	0.024	0.026	0.022	0.039	0.025
Knochenmark	0.018	0.017	0.050	0.053	—	0.034
Muskel	0.038	0.027	0.028	0.040	—	0.033
Nierenfett	—	0.032	0.023	0.042	—	0.032
Knochen	0.031	0.037	0.031	0.033	—	0.033
Galle	—	0.004	0.016	0.010	—	0.010
Darmschleimhaut	—	—	0.059	0.036	0.026	0.040
Harn	0.139	—	0.129	0.061	—	0.109

Vergleichen wir nun die Zahlen dieser fünf Tabellen, so geht zunächst daraus die Thatsache hervor, dass der relative und selbst der absolute Chlorgehalt des Blutes und der einzelnen Organe ein ziemlich constanter ist. Den höchsten Chlorgehalt hat

immer das Blut, d. h. das Blutserum, da bekanntlich im Blute das Chlor fast ausschliesslich dem Serum angehört, und von hier aus wird der Bedarf der einzelnen Organe versorgt, resp. der Ueberschuss durch die Nieren nach aussen entfernt. Leider konnten wir nicht in hinreichender Menge auch die Lymphe für die Untersuchung erhalten. Das Blut enthält doppelt so viel Chlor als wie die chlorreichsten Organe, nämlich die Lunge, die Haut und die Niere. Das chlorärmste Organ ist die Leber, deren Chlorgehalt nur $^1/_{10}$ von dem des Blutes beträgt. Selbst die so chlorarmen Muskeln, die $^1/_8$ von dem Chlor des Blutes enthalten, sind daran reicher. In ihrem Chlorgehalte zeigen das Blut, die Lunge, die Niere, die Haut, die Knochen und das Rückenmark nur geringe Schwankungen. Etwas grössere Schwankungen zeigt das Gehirn, die Leber, die Milz, die Schleimhaut des Magens und des Darmes, das Fett der Nieren und der Panniculus adiposus. Die grössten Schwankungen zeigt das Knochenmark, was mit dem wechselnden Gehalt desselben an Blut und Fett zusammenhängt. Der Chlorgehalt der Magenschleimhaut ist constant grösser als der der Darmschleimhaut. Ebenso enthält das Gehirn mehr als doppelt so viel Chlor, als das Rückenmark.

Wenn nun das Bromnatrium im Thierkörper wirklich das Chlornatrium ersetzen kann, wie wir das aus der Vertretung der Salzsäure durch Bromwasserstoffsäure im Magensaft geschlossen haben, so war zu erwarten, dass auch in den Organen das Brom zu dem Chlor im einfachen Verhältnisse stehen, d. h. da, wo mehr Chlor, auch mehr Brom vorhanden sein müsse. Diese Voraussetzung haben wir experimentell bestätigt.

Eine Hündin, 19.5 kg schwer, deren Futter täglich aus 820 g Fleisch und 600 ccm Milch bestand, erhielt in den ersten zwei Tagen je 2 g Bromnatrium. In den zwei folgenden Tagen je 3 g; in den darauffolgenden Tagen je 4 g und schliesslich in den letzten vier Tagen je 5 g; im Ganzen erhielt sie innerhalb zehn Tagen 38 g Bromnatrium. Schon nach vier Tagen wird die Hündin schläfrig, in den zwei letzten Tagen ist sie so schwach, dass sie kaum aufstehen kann. Der Harn enthält etwas Eiweiss und Gallenfarbstoff. Drei Tage nach der letzten Bromnatriumgabe, als das Thier sich zu erholen begann, wurde es durch Verblutung aus der Art. cruralis getödtet. Erhaltene Blutmenge = 1010 ccm. Die inneren Organe, namentlich die Nieren, sind hyperämisch, die Nierenkapsel schwer abziehbar; die ebenfalls bluthaltigen Lungen fallen nicht zusammen. Starkes Fettpolster. Im Magen stark faulig riechende Fleischreste; aus der Blase erhalten 93 ccm Harn, der stark eiweisshaltig ist. Wie in den Versuchen von Bereskin wurden auch hier die frisch gewogenen Organe bis zu constantem Gewichte getrocknet, hierauf in einer Platinschale ·· etwas chlorfreiem Kalke überschüttet und verascht. Die mit heissem Wasser gezogene Asche wurde bis zum Verschwinden der Chlorreaction im das Filtrat auf ein kleines Volumen verdunstet, mit Essigsäure ge in der Lösung das Chlor und Brom nach Berglund bestim Zahlen sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Procentgehalt des Organs		Bromgehalt in Proc.		Chlorgehalt in Proc.	
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser	frisch	trocken	frisch	trocken
Blut	68.70	13.01	19.22	80.78	0.341	1.504	0.198	1.044
Blut	64.54	12.48	19.34	80.66	0.33	1.965	0.211	1.093
Gelenkknorpel	3.42	1.23	36.02	63.98	0.449	1.247	0.283	0.786
Niere	82.60	18.41	22.99	77.01	0.262	1.179	0.114	0.513
Lungen	37.32	8.23	22.07	77.93	0.227	1.025	0.12	0.546
Darmschleimhaut	12.87	2.18	16.93	83.07	0.146	0.866	0.15	0.89
Magenschleimhaut	28.01	4.06	14.5	85.5	0.072	0.502	0.047	0.328
Knochenmark	3.69	2.57	69.64	30.36	0.161	0.231	0.067	0.096
Haut (fetthaltig)	28.7	17.82	62.9	37.1	0.126	0.303	0.08	0.129
Wirbelknochen	16.92	10.69	63.18	36.82	0.09	0.143	0.064	0.102
Knochen (compact)	23.55	13.92	42.78	57.22	0.071	0.12	0.046	0.078
Nierenfett	94.72	56.69	59.84	40.16	0.075	0.126	0.027	0.046
Harn	93 ccm	—	—	—	0.085	—	0.127	—
Galle	15.47	—	—	—	—	—	0.142	—
Haare	7.91	—	—	—	0	0	0.108	0.108

Wir haben noch an einem Hunde den Versuch wiederholt. Der Hund bekam in den ersten drei Tagen je 3 g Bromnatrium; dann in steigenden Dosen 4 und 5 g. In den letzten zwei Tagen 7 g. Im Ganzen erhielt er 44 g in zehn Tagen. Der Hund wurde Anfangs schläfrig, abgeschwächt und konnte am zehnten Tage kaum auf den Beinen stehen. Drei Tage nach der letzten Bromnatriumgabe wurde der Hund durch Verblutung getödtet und in den Organen wie in dem letzten Versuche das Brom und Chlor bestimmt. Leider ist uns hier durch Verwechselung die Asche von Lungen, Blut und Knochenmark verloren gegangen. Die über die übrigen Organe erhaltenen Zahlen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Name des Organs	Gewicht der Substanz		Procentgehalt des Organs		Bromgehalt in Proc.		Chlorgehalt in Proc.	
	frisch in g	trocken in g	fester Rückstand	Wasser	frisch	trocken	frisch	trocken
Nieren	48.92	10.52	21.5	78.5	0.206	0.957	0.198	0.923
Magenschleimhaut	43.9	9.72	22.14	77.86	0.156	0.705	0.118	0.536
Milz	40.30	10.32	25.61	74.39	0.095	0.371	0.094	0.369
Lymphdrüsen	7.18	2.4	33.4	66.6	0.11	0.332	0.135	0.404
Gehirn	34.70	8.72	25.13	74.87	0.078	0.314	0.092	0.368
Pankreas	22.71	6.77	29.81	70.19	0.075	0.253	0.035	0.118
Rückenmark	16.58	5.75	34.68	65.32	0.064	0.187	0.199	0.574
Leber	36.91	10.46	28.31	71.64	0.046	0.163	0.056	0.199
Muskel	27.59	7.81	28.3	71.7	0.027	0.096	0.024	0.086

Zu bemerken wäre noch, dass die Organe, wenigstens makroskopisch, gesund waren. So waren die Nieren nicht hyperämisch, die Lungen blass, enthielten sehr

wenig Blut und collabirten vollständig. Nur der Magen- und Dünndarminhalt hatten einen fauligen Geruch.

Auffallend bei diesem Hunde ist der geringe Wassergehalt der Organe. Es war ein altes Thier, und auch die bei der Verblutung erhaltene Blutmenge, im Ganzen 650 ccm, war im Verhältniss zu dem Gewichte des Hundes — 23 kg — sehr gering. Aus den beiden Bestimmungen geht aber deutlich hervor, dass die Organe, welche den höchsten Chlor-, auch den höchsten Bromgehalt haben. Im Gegensatz zu den normalen Hunden enthielt hier die Darmschleimhaut bedeutend mehr Chlor und auch Brom, als die Magenschleimhaut; auch die Leber ist hier reicher an Chlor und Brom als der Muskel. Sonst ist die Reihenfolge der Organe in Bezug auf den Brom- und Chlorgehalt ziemlich dieselbe, wie bei normalen Hunden.

Aus der Thatsache, dass das Brom im Organismus das Chlor vertritt, folgt nicht, dass dies zum Nutzen desselben geschieht. Wir sehen im Gegentheil, dass wahrscheinlich gerade deshalb im Thierkörper, welcher noch grössere Mengen von Jodnatrium oder schwefelsaurem Natrium ohne allen Schaden verträgt, das Bromnatrium bedenkliche Störungen, wie unvollkommene Verdauung, grosse Schwäche und schliesslich bei längerem Gebrauch Nieren- und Lungenentzündung zur Folge hat. Das dem Chlornatrium näher als Jodnatrium stehende Bromnatrium wird in der Magenschleimhaut in grosser Menge zu Bromwasserstoff umgewandelt, und jedenfalls auch in allen anderen Organen übernimmt es, namentlich bei mangelhafter Chlorzufuhr, die Rolle des letzteren, was aber für die Länge dem Organismus nicht zuträglich ist. In einer im Jahre 1877 auf Veranlassung von Ch. Bouchard ausgeführten Untersuchung zeigte Charles Chauvet[1]), wie gefährlich die Verabreichung von wirksamen Arzneistoffen bei Nierenentzündungen sei und wie langsam in solchen Fällen die Ausscheidung der Arzneistoffe, wie z. B. Bromkalium, Jodkalium, Quecksilberpräparate und Salicylsäure geschieht. Die langsame Ausscheidung des Bromnatriums in unseren Versuchen geschah jedenfalls deshalb, weil der Hund bei mangelhafter Kochsalzzufuhr das Bromnatrium in den Organen zurückhielt.

Im Anschluss an diese Untersuchungen möchten wir noch einzelne, im Laufe derselben gemachte Beobachtungen mittheilen, die wohl verdienen verzeichnet zu werden.

Der Magensaft von Hunden enthält sehr häufig, wenn auch nicht constant, Rhodanwasserstoffsäure. Schon der frische Saft, mit wenig verdünnter Eisenchloridlösung versetzt, färbt sich gelbroth bis roth. Wird solcher Magensaft mit Soda oder Ammoniak neutralisirt, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit wenig Alkohol extrahirt, so giebt der alkoholische Auszug alle Reactionen auf Sulfocyansäure. Durch Eisenchlorid wird die Lösung tief roth gefärbt. Schwefelsaures Kupferoxyd giebt damit eine smaragdgrüne Färbung (Reaction von Colasanti), und durch schwefligsaures Kupferoxydul entsteht in der Lösung ein weisser, amorpher, in Wasser unlöslicher Niederschlag. Auf das Vorkommen von Rhodan im [illegible]lichen Mageninhalt hat vor Kurzem G. Kelling[2]) aufmerksam gemacht. [illegible] des Rhodans im Magen betrachtet der Verf. irrthümlich d[illegible] [illegible] der von uns untersuchte Magensaft von oesophagotomi[illegible]

[1]) Du danger des médicaments actifs dans les cas des [illegible]

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 397.

hier die Beimischung des Speichels ausgeschlossen, und folglich ist das Rhodan ein Bestandtheil des Magensaftes. Uebrigens hat Herr Dr. Rjazantzew, der im Laboratorium von Prof. Pawlow mit Untersuchungen des reinen Fundussecretes von Hunden beschäftigt war, im Secrete resecirter und von dem übrigen Magen vollkommen getrennter Fundusblindsäcke bei wiederholten Untersuchungen darin Sulfocyansäure gefunden.

Eine andere Erscheinung bei Magenfistelhunden, namentlich wenn ihnen öfters Magensaft entzogen und kein Kochsalz zum Futter zugesetzt wurde, war die, dass der Harn solcher Hunde, nach Zusatz von Silbernitrat, nur im ersten Momente einen weisslichen Niederschlag gab, bald färbte er sich gelb, orange und schliesslich schwarz. Die schwarze Färbung tritt sofort ein, wenn der Harn mit Silbernitrat und dann noch mit Salpetersäure versetzt wird. Die genauere Untersuchung zeigte, dass die Substanz, die im Harn diese Erscheinung verursacht, unterschweflige Säure ist. Werden Harne, die in exquisiter Weise diese Reaction zeigen, auf dem Wasserbade verdunstet, dann mit Alkohol extrahirt und der alkoholische Auszug mit Aether bis zu bleibender Trübung versetzt, so scheidet sich das Natriumhyposulfit, mit etwas Harnstoff vermengt, als gelber Syrup an den Wänden des Becherglases ab. Mit diesem, nicht ganz reinen, syrupösen Producte haben wir alle Reactionen auf unterschweflige Säure anstellen können. Diese Säure war im Harne unserer, übrigens mit Fleisch und Brot reichlich gefütterten Magenfistelhunde in erheblichen Mengen vorhanden. Um uns hierüber Aufklärung zu verschaffen, haben wir im Harne einerseits den Gesammtschwefel, andererseits den Schwefel in Form von Schwefelsäure bestimmt. Der Procentgehalt des nicht oxydirten Schwefels war recht hoch, doch überstieg er nicht die für Hundeharne angegebene Maximalgrenze. So enthielt der Harn des Hundes, der später mit Bromnatrium gefüttert wurde, am 13. Januar 38.5 Proc. des Gesammtschwefels in nicht oxydirtem Zustande, am 20. Januar 49.5 Proc. und am 21. Januar 43.6 Proc. nicht oxydirten Schwefels. Nach einer Zusammenstellung von Rudenko[1]) schwankt die Menge des nicht oxydirten Schwefels bei Hunden zwischen 19 bis 46 Proc. Nach Brotfütterung steigt diese Menge und betrug in einem Falle von Voit und Bischoff 77.6 Proc.

Bemerkungen über die sogenannte Asche der Eiweisskörper

von

M. Nencki.

Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. **34**, 334. — Arch. des sciences biolog. **3**, 212. — Gazeta Lekarska (1894) Nr. 45.

Fast allgemein ist bis jetzt die Vorstellung, dass die in den Eiweisskörpern enthaltenen Mineralbestandtheile, wie Kali, Natron, Kalk, Magnesia, welche gewöhnlich beim Veraschen „selbst der gereinigten" Eiweissstoffe zurückbleiben, nur zufällige, schwer zu entfernende Verunreinigungen des „idealen, aschefreien" Albumins sind.

[1]) Virchow's Archiv **125**, 102 (1891).

Dass ein solches aschefreies, also nur aus C, H, N, O und S bestehendes Eiweiss erhältlich sein wird, will ich nicht bestreiten. Das aschefreie Albumin von E. Harnack hat sich nach den Versuchen von Werigo, sowie Stohmann und Langbein als chlorhaltig erwiesen. Zwar theilt Harnack[1]) mit, dass es ihm gelungen sei, durch Dialyse daraus das Chlor bis auf Spuren zu entfernen, wobei aber auch das Eiweiss seine Eigenschaften änderte, d. h. in Wasser unlöslich wurde. Dass aber ein solches aschefreies Eiweiss im Pflanzen- oder Thierkörper existire, glaube ich nicht, und mit Interesse habe ich daher die kürzlich publicirte Aeusserung E. Harnack's[2]) gelesen, der, nachdem er sich damit einverstanden erklärt, dass in den Krystallen von Bondzyński und Zoja das Kalkphosphat an das Eiweiss chemisch gebunden sei, folgende Bemerkung hinzufügt: „Ich gelange mehr und mehr zu der Ueberzeugung, dass dies für alle sogenannten anorganischen Elemente gilt, welche nach der landläufigen Bezeichnung die ‚Asche' unserer Nährstoffe zusammensetzen.“ Dass die Phosphorsäure in vielen pflanzlichen Eiweissstoffen, namentlich der Leguminosen und den thierischen Nucleïnen einen wesentlichen und charakteristischen Bestandtheil des Moleküls ausmacht, wird jetzt von Niemandem bezweifelt, und vom Chlor ist dies von C. Schumow-Simanowski kürzlich für das körnige Pepsin gezeigt worden. Ich glaube im Gegentheil, dass das Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, die Phosphorsäure und das Chlor gleich wie das Eisen im Hämoglobin nicht allein einen wesentlichen Bestandtheil im Molekül der verschiedenen Eiweissstoffe ausmachen, sondern dass ihnen auch eine bestimmte, functionelle Bedeutung in den lebendigen pflanzlichen oder thierischen Organismen zukommt. Schon die eigenthümliche und constante, von uns nachgewiesene Vertheilung des Chlors in den Organen des Thierkörpers spricht dafür, und die Abgabe des Kochsalzes vom Blute an die einzelnen Organe wird offenbar nach bestimmten Gesetzen regulirt. Ich beabsichtige, auf gleiche Weise wie das Chlor auch die Phosphorsäure, das Calcium, Magnesium, Kalium und Natrium in den einzelnen Organen zu bestimmen, und hoffe durch eine solche Topographie der Mineralbestandtheile wichtige Anhaltspunkte zur Erklärung der verschiedenen Stoffwechselvorgänge in den einzelnen Organen zu erhalten. Es ist klar, dass die an Alkalien oder alkalische Erden gebundenen Eiweissstoffe eine andere Aufgabe im Thierkörper zu erfüllen haben, als die Eiweissstoffe, die in ihrem Molekül Phosphorsäure oder Chlor enthalten. Die Topographie der einzelnen Basen, wie Kali, Natron, Kalk und Magnesia, andererseits der Mineralsäuren, namentlich der Phosphorsäure, wird uns voraussichtlich Aufklärung über die Vertheilung der functionellen Proteïnsubstanzen und der dem Zerfall anheimfallenden Nahrungseiweissstoffe geben. Das Bedürfniss nach dieser Abgrenzung der Proteïnsubstanzen war schon lange vorhanden und fand seinen Ausdruck in der Voit'schen Eintheilung in das Organ- und Circulationseiweiss. Ich denke, dass ausser dem organisirten Eiweiss, wie z. B. in Form einer Muskelfaser, wir in den Säften und dem Zellinhalt gelöste Proteïnsubstanzen haben, wie das E die Nucleïne, die Globuline u. s. w., welche darin lange unverändert per

[1]) Ber. 25, 204 bis 209.

[2]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie 19, 299.

die ich daher zum Unterschiede von dem dem Zerfall anheimfallenden Nahrungseiweiss als functionelle Proteïne bezeichne. Von hohem Interesse in dieser Hinsicht sind die Untersuchungen von Leo Liebermann[1]) über die von ihm aufgefundenen Lecithalbumine, die namentlich in den drüsigen Organen vorkommen. Die Lecithalbumine — Verbindungen von Lecithin mit Eiweissstoffen — sind intensiv sauer reagirende Substanzen, die beträchtliche Mengen von Basen binden. Eine alkalisch reagirende Lösung von Na_2HPO_4 fliesst sauer ab, wenn sie über Lecithalbumin filtrirt wird. Mit Sodalösung behandelt quillt es auf und giebt eine nicht filtrirbare, colloide Natriumverbindung. Filtrirt man über das Lecithalbumin der Nieren defibrinirtes, alkalisch reagirendes Blut, so reagirt das Filtrat sauer. Ich kann daher der Ansicht von Prof. Leo Liebermann nur beipflichten, dass den Lecithalbuminen bei der Drüsensecretion eine wichtige Rolle zukommt. Bei der Bildung der specifischen Drüsensecrete kommt die Filtration und Diffusion erst in zweiter Linie in Betracht. In erster Linie handelt es sich hier um chemische Umsetzungen. Die gleiche Magenschleimhaut, welche Kochsalz oder Bromnatrium ansammelt und daraus einerseits Alkali, andererseits ClH oder BrH abspaltet, bildet aus JNa nur Spuren von JH und lässt nach Fütterung von SO_4Na_2 keine Spur von diesem Salze hindurch, obgleich das umspülende Blut sehr reich daran ist. Hier kommen Filtration oder Diffusionsvorgänge nicht in Betracht. Es sind sicher chemische Umsetzungen durch eigenthümliche Proteïnsubstanzen der secernirenden Drüse vermittelt; denn nur so lässt sich die Selectionsfähigkeit der lebendigen Magenschleimhaut für bestimmte Salze erklären. Dasselbe gilt für die Nieren. Die Hippursäure wird erst in den Nieren gebildet, und für den Harnstoff und die Harnsäure sind nicht die Malpighi'schen Knäuel, sondern die Harncanälchen die Absonderungsapparate; hier haben wir ebenfalls keine einfache Filtration.

Auch bei dem Transport und der Entfernung der fremden Stoffe und der Metallgifte werden zuerst chemische Verbindungen zum grossen Theil wohl mit Eiweissstoffen gebildet, welche dann auf verschiedene Weise die Ausscheidung solcher Stoffe aus dem Organismus vermitteln. Die in den thierischen Säften unlöslichen Substanzen werden vorzugsweise von den Leukocyten[2]) aufgenommen. So die Zinnoberkörnchen (Ponfick, Hoffmann und Langerhans), das Eisen (Samojlow und Lipski), die Bacterien (Metschnikow) und in den Darmzotten das Nahrungsfett (Zawarykin). Der Entfernung vieler Fremdstoffe, namentlich der aromatischen Reihe, geht die Paarung mit Glycocoll, Glycuronsäure oder Schwefelsäure voraus. Nach den Untersuchungen von Lehmann[3]) sammelt sich das Blei hauptsächlich

[1]) Pflüger's Archiv **50**, 25 bis 56 und **54**, 573 f. — Maly's Jahresber. **21**, 240 u. 167; **22**, 260; **23**, 32 u. 239.

[2]) Die im Blute kreisenden fremden Körnchen (Indigo) werden nach W. Siebel (Virchow's Archiv **104**, 514) nicht allein von den weissen Blutkörperchen, sondern auch von den Pulpazellen der Milz und des Knochenmarks sowie von den Lebercapillaren aufgenommen und festgehalten. — Nach Werigo (Annales de l'Institut Pasteur **6**, 500) überbringen die Leukocyten, in den nächsten 6 bis 7 Minuten nach der Injection ins Blut, die Fremdkörper (Karminkörner, Milzbrandbacillen) zu den Endothelzellen der Lebercapillaren, wodurch (nach etwa 20 Minuten wieder verschwindende) Capillarthrombosen entstehen.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**, 532.

in der Galle an, mit welcher es in den Darm entleert wird. Ein Kaninchen, das mit Bleinitrat vergiftet wurde, starb nach zwei Wochen. In der Leber, die 32 g wog, waren von dem verabreichten Blei nur 0.976 Proc. Pb enthalten, in 3 g der Galle dagegen 12.5 Proc. Pb. Selbst absolut genommen enthielt die Galle mehr Blei, als die Leber. Auch das Eisen wird nach den Untersuchungen von Samojlow und Lipski[1]) fast nur durch die Darmwand ausgeschieden, wobei, wie oben erwähnt, diese Ausscheidung durch Vermittelung von Leukocyten zu Stande kommt. Umgekehrt findet E. Ludwig[2]) nach Quecksilbervergiftungen das meiste Quecksilber in der Niere, durch welches Organ es hauptsächlich entfernt wird. Interessant ist daher die Beobachtung von Leo Liebermann[3]), dass, wenn stark verdünnte Sublimatlösung über genügende Mengen von Lecithalbumin filtrirt und das Filtrat öfters wieder aufgegossen wird, das Filtrat schliesslich weder Quecksilber noch Chlor, oder höchstens nur Spuren davon enthält. Für Quecksilber besitzt also das Lecithalbumin ein sehr bedeutendes Retentionsvermögen. Liebermann fand darin 9.3 Proc. HgO.

Ueber die Milch in ihrer Beziehung zur Aetiologie der Diphtherie

von

J. Wladimirow.

Arch. des sciences biolog. **3**, 85. — Inaug.-Dissert. St. Petersburg (1894). — Nach dem Referate von Prof. M. Nencki abgedruckt. Maly's Jahresber. **24**, 814.

Verf. hat in Nencki's Laboratorium eine Reihe von Versuchen an Kühen und Ziegen angestellt, um zu ermitteln, inwiefern die Milch von Kühen, in deren Euter Diphtheriebacillen eingeführt wurden, ansteckend sein kann und welche Veränderungen die Milch dabei erleidet. Es wurden Versuche mit zweitägigen, stark virulenten Diphtheriebouillonculturen, mit sterilem Diphtherietoxin und zur Controle mit reiner steriler Bouillon angestellt, welche den Thieren in die eine Hälfte der Drüsen durch die Zitzen eingespritzt wurden. Die Reaction resp. das Befinden der Thiere wurde genau beobachtet und die Milch sowohl der erkrankten Hälfte, als auch der gesunden genau bacteriologisch und chemisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind folgende: Die von der Drüse, in welche Diphtheriebacillen injicirt wurden, secernirte Milch hat eine grünliche Färbung und bildet beim Stehen einen mässigen Bodensatz, aus Eiterkörperchen bestehend. Beim Kochen gerinnt sie; ihre Reaction ist deutlich alkalisch. Sie enthält bedeutend weniger Zucker und mehr Eiweiss-

---

[1]) Arbeiten des pharmakol. Instituts in Dorpat. **9**, 1 u. 62. — Maly's Jahresber. **23**, 107 u. 109.

[2]) Maly's Jahresber. **20**, 77.

[3]) Ebenda **23**, 34.

stoffe, die Fettmenge bleibt unverändert. Es sind dies Veränderungen, wie sie bei mässigen Katarrhen des Euters auftreten. Die nicht inficirte Hälfte der Milchdrüse producirt während der Zeit normale Milch. Die in den ersten Tagen in der Milch der erkrankten Drüse nachweisbaren Diphtheriebacillen sind nach verhältnissmässig kurzer Zeit (vier bis acht Tagen) nicht mehr darin vorhanden. Parallel mit dem Schwund der Bacillen nimmt die Milch normale Beschaffenheit und Zusammensetzung an. Die Thiere, welche Anfangs mit erhöhter Temperatur und Verlust an Körpergewicht reagiren, erholen sich nach zwei bis drei Wochen vollständig. Verf. kommt zu dem Resultat, dass die lebendige Milchdrüse kein günstiger Nährboden für die Diphtheriebacillen ist und dass, falls durch die Ausführungsgänge Diphtheriebacillen in das Euter gelangen, sie in kurzer Zeit darin zu Grunde gehen müssen, daher auch die Gefahr der Infection mit Diphtherie durch das Trinken ungekochter Milch keine grosse ist. Viel grösser ist die Gefahr der Infection mit Streptococcen beim Trinken ungekochter Milch, da nach den Versuchen von Nencki[1]) Streptococcen, nach einer einmaligen Injection in die Milchdrüse, viele Monate darin lebendig verbleiben. Gegen das durch Chamberland'sche Kerzen filtrirte Diphtherietoxin sind Ziegen und namentlich Kühe sehr empfindlich und können, je nach der Stärke des Toxins, schon 1 bis 3 ccm der Lösung unter dem typischen Bilde der Diphtherietoxinvergiftung tödtlich wirken. Einen Ausschlag auf den Zitzen oder dem Euter, wie ihn einmal Klein beschrieben und in ursächlichen Zusammenhang mit Diphtherieinfection gebracht hat, hat der Verf. in seinen Versuchen nicht gesehen.

Zur Kenntniss des Espentheers

von

W. Adolphi.

Arch. der Pharm. **232**, 321. — Arch. des sciences biolog. **3**, 33. — Nach dem Referate von Dr. Hefelmann abgedruckt. Chem. Centralbl. **65**. II, 317. — Ausser dieser Arbeit hat Herr Adolphi noch kleinere Mittheilungen über diesen Gegenstand in Pharm. Zeitschr. f. Russland (1894) Nr. 35 und in Фармацевтъ (1894) Nr. 12 bis 15 publicirt.

Birken- und Espentheer erwiesen sich als Desinfectionsmittel weniger wirksam als Fichtenholztheer, den Nencki als Desinficiens empfohlen hatte. In den Phenolen des letzteren fanden Nencki und Sieber nur Brenzcatechinderivate (Guajacol und dessen Homologe), in den Phenolen des Birkentheers wies Pfrenger sowohl einwerthige Phenole (Phenol, Kresol und Xylenol) wie auch zweiwerthige Phenole

[1]) Dieser Band S. 273.

(Guajacol und Kreosol) nach. Der Espentheer von Populus tremula wird in Centralrussland fabricirt. Markownikow fand in Espentheeren 11 bis 38.5 Proc. Phenole; Nencki und Sieber[1]) untersuchten einen Espentheer mit 10 Proc. Essigsäure, dessen bei 260° siedende Antheile, mit Kaliumbichromatlösung geschüttelt, leicht in Cörulignon übergingen, was auf der Gegenwart von Pyrogallolderivaten beruht. Buchen- und Espentheer enthalten dreiwerthige Phenole, die in Birken- und Fichtenholztheer nicht vorkommen. Der vom Verf. untersuchte Theer stammte aus Nischni-Nowgorod und stellte eine schwarze, ölige, fast schmierige Flüssigkeit von eigenthümlich unangenehmem Geruch dar, die von Krystallflittern durchsetzt war, die keine Pimarsäurereaction gaben. Der Espentheer ist fast völlig löslich in absolutem Alkohol und Aceton, während 95proc. Alkohol, Chloroform, Benzol und Petroleumäther nur unvollkommen lösten. Alkali löst leicht und vollständig. Die Lösung von 1 Theil Theer in 3 Theilen 5proc. Natronlauge erstarrt schon bei Zimmertemperatur zu einer ziemlich festen Masse, deren spec. Gewicht bei 15° 1.0586 ist. Säuregehalt, auf Essigsäure berechnet, 4.4 Proc. Die Reactionen des Espentheers, verglichen mit denen des Fichten- und Birkentheers, sind folgende:

	Fichtentheer	Birkentheer	Espentheer
Wässerige Lösung mit $FeCl_3$	Roth	Grün	Roth
„ „ mit Anilinchlorhydrat . .	Roth	Gelblich	Roth
„ „ mit Kalkwasser	Röthlichbraun	Rothbraun	Rothbraun
Petroleumätherauszug mit Kupferacetat . . .	Grünlich	Farblos	Farblos

In die alkalischen Waschwässer des Theers gingen über: Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure. Die Kohlenwasserstoffe des Theers, welche zwischen 100 und 340°, in der Hauptmenge zwischen 210 und 260° übergingen, enthalten Paraffin. Die Phenole siedeten zwischen 200 und 290°, und zwar siedete mehr als die Hälfte zwischen 250 und 270°. (Pyrogallussäure-Dimethyläther hat Siedepunkt 253°, Methylpyrogallussäure hat Siedepunkt 265°.) Die Fractionen bis 230° gaben mit $FeCl_3$ Brenzcatechinreaction, während die höheren Fractionen Pyrogallolreaction zeigten und sich in alkalischer Lösung rasch tiefschwarz färbten. Die Phenole wurden über die Pikrate hinweg gereinigt. Aus der Fraction von 200 bis 230° wurde ein reineres Gemisch vom Siedepunkte 202 bis 228° gewonnen, dessen Hauptantheil bei 212° siedete. Das niedrigst siedende Phenol erwies sich als Guajacol. Die Untersuchung blieb unvollendet.

[1]) Dieser Band S. 411.

Die Desinfection des Sputums der Phthisiker und der Culturen der Tuberkelbacillen mit den alkalischen Theerlösungen und mit Holzessig

von

G. Gorjansky.

Arch. des sciences biolog. 3, 148. — Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Dr. J. Pruszyński abgedruckt. Maly's Jahresber. 24, 768.

Dem tuberculösen Sputum setzte der Verf. zu gleichen Theilen Holzessig oder 10- und 25 proc. Lösungen von Fichtenholztheer in Kalilauge zu und impfte nach einiger Zeit die vorher mit sterilisirtem Wasser abgespülten Sputumpartikel den Meerschweinchen in die Peritonealhöhle und auf die Nährböden (Agar, Blutserum, Bouillon mit Zusatz von Glycerin). Auch hat der Verf. die Versuche über den Einfluss der oben genannten Mittel auf die reinen sechswöchentlichen Culturen der Tuberkelbacillen auf Glycerinagarbouillon durchgeführt, indem er ein Partikelchen der Cultur dem desinficirenden Mittel zusetzte und in der oben erwähnten Weise untersuchte. Diese Untersuchungen ergaben folgende Resultate: 1. Der Holzessig, zu gleichen Theilen dem Sputum zugesetzt, besitzt stark desinficirende Eigenschaften. Eine sechsstündige Desinfection genügt, um alle im Sputum vorhandenen Mikroorganismen, auch die Tuberkelbacillen zu vernichten. 2. Eine einstündige Wirkung des Holzessigs auf reine Culturen genügt, um sie zu tödten. 3. 10 proc. alkalische Lösung des Fichtenholztheers, dem Sputum zu gleichen Theilen zugesetzt, tödtet nicht die darin vorhandenen Tuberkelbacillen vor 24 Stunden. 4. 10- und 25 proc. Lösungen des Fichtenholztheers haben einen geringen Einfluss auf die reinen Tuberkelculturen; es genügt nicht eine vierstündige Wirkung der 25 proc. Lösung, um die reinen Culturen abzutödten.

Vergleichende Untersuchung der desinficirenden und antiseptischen Wirkung des freien und des an Natron gebundenen Phenols und seiner Homologen

von

E. Erlenwein.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Herrn W. Adolphi abgedruckt. Pharm. Zeitschr. für Russland (1894) Nr. 42.

Die Choleraepidemien der vergangenen Jahre haben das Bedürfniss nach Desinfectionsmitteln gesteigert und Veranlassung gegeben, nicht nur ausländische Präparate (Kreolin, Lysol, Solveol, Solutol u. s. w.), sondern auch einheimische Mittel zu gebrauchen, wie die alkalische Fichtentheerlösung von Nencki, das Rapt-

schewsky'sche Pixol und die Theerlösung von Danilewsky. Diese Mittel stellen im Wesentlichen Lösungen von Phenolen in Alkali oder alkalischen Erden vor und haben daher Aehnlichkeit mit den genannten ausländischen Präparaten. Zweck vorliegender Arbeit war, die Wirkung freier und an Natron gebundener Phenole auf Reinculturen zu studiren, und zwar wurden angewandt Phenol, o-, m- und p-Kresol, Kreosot, Guajacol und ihre Natronverbindungen in 5 proc. Lösung resp. Emulsion. An Reinculturen wurden benutzt: Vibrio Cholerae asiat., Bac. typhi abdom., Bact. coli commune, Bac. pyocyan., Bac. diphtheriae, Bac. Megaterium tetrag., Staphylococcus pyogenes aureus und albus und Milzbrandsporen. Aus den beigefügten Tabellen ist ersichtlich, dass die Natronverbindungen im Allgemeinen schwächer wirken als die freien Phenole. Phenol-, Metakresol- und Guajacolnatrium tödten sämmtliche genannten Bacillen mit Ausnahme von Diphtherie in 3 bis 15 Minuten ab, während alle übrigen, sowohl die freien als auch die gebundenen Phenole sie in 1 bis 2 Minuten abtödten. Staphylococcus pyog. alb. und aur. werden von den freien Phenolen in 1 Minute, von den gebundenen aber erst in 5 Minuten bis drei Stunden abgetödtet. Am schwächsten wirken auch hier Phenol- und Metakresolnatrium, während Kreosot- und Guajacolnatrium schon in 1 Minute abtödtend wirken. Da Milzbrandsporen in 5 proc. Lösung von allen freien und gebundenen Phenolen in sechs Tagen und in 10 proc. Lösung in drei Tagen noch nicht getödtet wurden, so hielt Verf. die Mittel als für Milzbrandsporen unbrauchbare Desinficientien und hat ihre Wirkung nicht weiter verfolgt. Die wachsthumhemmende Wirkung der Desinficientien gestaltet sich derart, dass die freien und gebundenen einatomigen Phenole bei einem Zusatz von 0.0784 bis 0.283 Proc. zu der Reincultur das Wachsthum der Keime verhindern, während die zweiatomigen, das Kreosot und das Guajacol, schwächer wirken und 0.098 bis 0.454 Proc. erforderlich sind. Wiederum sind hierbei Staphylococcus aur. und alb. die resistentesten.

Beiträge zur Pharmakologie des o- und p-Chlorphenolwismuths, Chlorphenolcarbonats und Pyrogallolwismuths

von

N. Wifansky.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

In der Fortsetzung der Arbeiten von Dr. Jasieński und Karpow [1]) untersuchte Verf. desinficirende Eigenschaften einiger Verbindungen der Chlorphenole. Sämmtliche Präparate wurden in der chemischen Fabrik von Dr. v. Heyden in Radebeul dargestellt. o- und p-Chlorphenolwismuth, $Bi_4O_6(C_6H_4ClO)_2$, erwiesen sich als sehr unrein. Orthoverbindung besass 7.0 Proc. Chlorphenol, 16.5 Proc. Wismuth-

[1]) Deren Inaug.-Dissert. Dieser Band S. 439 u. 440.

nitrat und 50.4 Proc. Wismuthtrioxyd. Paraverbindung nur 3.5 Proc. Chlorphenol, 12.4 Proc. Wismuthnitrat und 69.3 Proc. Wismuthtrioxyd. o-Chlorphenolcarbonat, $CO(C_6H_4ClO)_2$, enthielt verhältnissmässig grosse Mengen, nämlich 90.8 Proc. Chlorphenol.

Alle diese Präparate besitzen keine toxische Wirkung, sogar bei Dosen von 5 bis 10 g pro die (Hunde); nur die zwei ersten verursachen eine unangenehme Folgerung — Verstopfung. Im Magendarmtractus zerlegen sie sich in ihre Componenten. Chlorphenol wird resorbirt und durch die Nieren als Aetherschwefelsäure oder in Paarung mit Glycuronsäure ausgeschieden (45 bis 57 Proc. der eingefütterten Menge). Was das Wismuth anbetrifft, so ist es im Menschenharn nicht aufzufinden; Hundeharn enthielt sehr geringe Mengen; eine stärkere Acidität des Magensaftes dieser Thiere verursacht aller Wahrscheinlichkeit nach die Resorption des Wismuths. Bei einem Hunde von 21 kg Körpergewicht, welcher 8 g Chlorphenolcarbonat eingenommen hatte, konnte man nach vier Stunden die Anwesenheit des freien Chlorphenols im Magen und Darme constatiren, wodurch die antiseptische Wirkung dieser Präparate im Verdauungscanal sich erklärt.

Pyrogallolwismuth, $C_6H_8O_3Bi$, dessen Analysen ergaben, dass es 34.3 Proc. Pyrogallol enthalte, besitzt keinerlei Vorzüge vor den drei oben beschriebenen Präparaten. Seine Giftigkeit ist im Vergleich mit Pyrogallol viel kleiner; jedenfalls sollten Dosen von mehr als 3 g mit Vorsicht angewendet werden.

Ein Beitrag zur Lehre von dem Fischgift. Bacillus piscicidus agilis, ein für Fische pathogener Mikrobe

von

N. Sieber.

Arch. d. sciences biolog. 3, 226. — Pharmac. Zeitschr. f. Russland (1895) Nr. 13 bis 16. — Gazeta Lekarska (1895) Nr. 13 bis 17. — Nach dem Referate von Dr. B. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. 66, I, 89.

Die Frage über das Fischgift ist hauptsächlich deshalb bisher unentschieden geblieben, weil die Mehrzahl der mit dieser Frage beschäftigt gewesenen Autoren zu einer Zeit arbeitete, wo man von der Bacteriologie noch wenig wusste. Die Untersuchungen, welche Verf. unternahm, gingen von Fischen aus, welche in einem Reservoir sich befanden, letzteres hatte lange zur Aufbewahrung von Fischen gedient, ohne dass diese erkrankten. Plötzlich stellte sich bei denselben eine Epidemie ein. In den Organen zweier Zander, welche inficirt waren, fanden sich als Krankheitserreger Bacillen, welche mit dem Namen Bacillus piscicidus agilis belegt wurden. Dieselben sind im Gegensatz zu dem von Fischel und Enoch [1]) in giftigen

[1]) Fortschritte der Med. **10**, 277.

Fischen gefundenen Bac. piscicidus beweglich; im jüngsten Zustande sehr kurz und dick, sind die älteren Exemplare drei- bis viermal länger, aber viel dünner. Besonders die erste Form ist so charakteristisch, dass sie leicht erkannt werden kann, selbst in Gemengen mit anderen Mikroben, besonders dann, wenn man zu ihrer Färbung Ziehl'sche Lösung angewandt hatte. Auch ihre Colonien auf Gelatine bilden manches Charakteristische. Der Bacillus wächst facultativ anaërob; er hält sich nur kurze Zeit in sterilisirtem Brunnenwasser, dagegen lange Zeit und bleibt pathogen, wenn dasselbe nicht sterilisirt worden war. Im Flusswasser (Fontanka) bei Zimmertemperatur waren die Bacillen noch nach zwei Monaten lebensfähig. Temperaturen von 68 bis 70° tödten sie bei 5 bis 10 Minuten langer Einwirkung. Sie geben auch die Indolreaction, entwickeln also Indol und N_2O_3 zugleich.

Der Bacillus ist für verschiedene Fischarten und für Frösche pathogen, sowohl per os, als auch intraperitoneal eingeführt; aber auch Warmblüter gehen bei der Infection zu Grunde. Derselbe ist nicht nur im Stande zu inficiren, er wirkt auch toxisch. Wenn ein Fisch in Folge einer Infection zu Grunde gegangen ist, so konnte man durch schwach salzsäurehaltiges Wasser ein stark giftiges Extract aus demselben gewinnen. Culturflüssigkeiten, in denen der Bacillus piscicidus agilis gezüchtet war, enthalten ebenfalls das Gift. Die durch Chamberlandkerzen filtrirten Flüssigkeiten geben mit Eisenchlorid eine charakteristische Reaction, sie nehmen eine deutlich rothe Färbung damit an, die selbst beim Kochen bleibt. Um das Toxin zu isoliren, werden die sterilen Filtrate mit Bleiessig behandelt, aus den Lösungen wurde das Blei mit H_2S entfernt und diese Flüssigkeit bei 25 bis 30° eingeengt. Nachdem wieder durch eine Chamberlandkerze filtrirt worden war, wurde concentrirte Sodalösung zugesetzt; der hierbei entstehende gelatinöse Niederschlag löste sich leicht in verdünnter Salzsäure. Der Niederschlag hatte eine stark alkalische Reaction, das alkoholätherische Extract desselben setzte beim Verdunsten grosse rhomboidische Krystalle ab; die Flüssigkeit wurde bei 30° verdunstet und so das Chlorhydrat der gesuchten organischen Base gewonnen, welche grosse Giftigkeit besitzt. Jedoch wurde aus 2 Liter Culturflüssigkeit nur 0.1 g davon gewonnen. Die Base schmeckt brennend und bitter, mit metallischem Natrium geglüht, entwickelt sie den Geruch nach Amylamin, und es findet eine Sublimation öliger Tropfen statt; am Ende des Glühens riecht man Benzonitrit heraus. Auch Erhitzen mit kaustischem Natron liefert den Amylamingeruch. Verf. glaubt auch, aus epidemiologischen Beobachtungen schliessen zu dürfen, dass der Bacillus für Menschen pathogen ist.

Hämoglobin und seine Derivate als Nährboden für pathogene Bacterien

von

J. Filipowsky.

Arch. des sciences biol. 3, 1. — Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Dr. B. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. 66, II, 921.

Verf. hat für seine Versuche Pferdeblut verwendet, seltener dasjenige vom Hunde. Zur Darstellung des Hämoglobins wurde die Hoppe-Seyler'sche Methode gewählt; die hierbei erhaltenen Krystalle wurden in destillirtem Wasser bei 30 bis 35° gelöst, wobei die Beobachtung gemacht wurde, dass sich das Hämoglobin des Pferdeblutes leichter löst, als das vom Hunde. 100 ccm Wasser nehmen von jenem 5 g, von diesem nur 3 g auf. Um concentrirtere Lösungen zu erhalten, muss man 0.6 proc. Kochsalzlösung oder 1 : 2500 Natronlauge nehmen. Um diese Lösungen zu sterilisiren, wurden sie durch Chamberlandfilter filtrirt. Milzbrand-, Cholera-, Pyocyaneus-, Typhusbacillen wuchsen auf 0.5- bis 3 proc. Hämoglobinlösung sehr üppig, Diphtheritisbacillen, Staphyl. pyog. aureus und Streptoc. des Erysipels auf 0.5 proc. Lösung schwach, stark auf 1- bis 3 proc. Lösung. Spectroskopisch erwies sich dabei nur das Hämoglobin, das mit Cholera inficirt war, als reducirt, alle anderen Bacterienarten hatten es nach und nach in Hämatin umgewandelt. Weitere Versuche haben gezeigt, dass der Cholerabacillus das Oxyhämoglobin derart zersetzt, dass daraus eine für Choleraculturen charakteristisch gefärbte Substanz entsteht. Durch Amylalkohol wird letztere nicht mehr den wässerigen Lösungen entzogen, wohl aber ist sie in Alkohol löslich; auch ihr Spectrum kennzeichnet sie als verändertes Oxyhämoglobin; der Eisengehalt ist sehr gering, bisweilen fehlt er ganz. Die anderen Bacillenarten lieferten Globulin und Hämatin, zersetzten aber das Hämoglobin nicht gleichartig. Aehnlich wie Cholerabacterien verhalten sich die Fäulnisserreger.

Die pathogenen Bacterien erlangen in Oxyhämoglobinlösungen eine starke Virulenz. Auf Kohlenoxydhämoglobinlösungen verhalten sie sich ähnlich wie auf Oxyhämoglobin; für einzelne Arten dagegen, wie für Diphtheritisbacillen, ist jenes aber starkes Gift. Aehnliche Versuche wurden auch mit Lösungen von Methämoglobin ausgeführt. Schliesslich wurde der Bestandtheil zu ermitteln gesucht, welcher für das Wachsthum besonders günstig ist, und dabei gefunden, dass das Hämatin am allerstärksten von den Mikroben verbraucht wurde.

Note sur l'étiologie du choléra

par

M. Nencki.

Arch. des sciences biol. 3, 257.

L'intéressant article de M. E. Metchnikoff sur le choléra paru dans le numéro d'août de cette année des „Annales de l'Institut Pasteur[1])“ m'oblige à faire les remarques suivantes.

M. E. Metchnikoff confirme d'une part le fait déjà constaté par nous qu'il y a des microbes qui augmentent la virulence envers les animaux des bacilles-virgules; d'autre part, qu'il y a aussi des antagonistes du microbe du choléra, lesquels agissent dans le canal intestinal contre sa multiplication et contre le développement de son activité maligne. Les recherches de M. Metchnikoff confirment les vues basées sur des faits expérimentaux que Garré[2]), moi même[3]) et d'autres auteurs avons exprimées sur la symbiose et l'énantiobiose. M. Metchnikoff exprime son opinion (p. 565) sur la part prise par les microorganismes contenus dans l'intestin lors du développement de la maladie à peu près de la même manière que je l'ai fait il y a deux ans, à propos de nos observations sur la dernière épidémie de choléra en Russie. M. Metchnikoff n'indique cependant pas exactement ma manière de voir lorsqu'il dit: „D'après la théorie de M. Nencki et de ses élèves, le choléra serait dû à une association du vibrion cholérique avec certaines autres bactéries spécifiques auxquelles ils ont donné le nom de Bacillus caspicus.“

Dans les deux conférences tenues par moi[4]), j'insiste sur ce fait que je considère les bacilles-virgules comme étant la cause la plus prochaine du choléra, mais j'ajoute qu'il y a dans l'intestin d'autres microbes qui jouent un rôle important lors de l'éclosion de la maladie. Parmi ceux-ci, je compte non seulement les bacilles caspiens α, β, γ, mais aussi les bacilles découverts par M. le Dr. Blachstein dans les conduites d'eau de St. Pétersbourg et dans les excréments des vaches par MM. Blachstein et Zumft. On voit que je ne considère pas le bacille caspien comme spécifique pour l'incubation du choléra, mais au contraire que j'admets comme possible la découverte d'autres microbes encore plus actifs, mélangés aux cultures du bacille-virgule. Ce que j'ai fait ressortir, c'est seulement que pendant une épidémie de choléra, outre les bacilles-virgules, les autres microbes présents dans l'intestin prennent également une part active dans le développement de la maladie. Quant à savoir si ces microbes se trouvent normalement dans l'intestin d'individus sains ou s'ils n'apparaissent que pendant les époques de choléra, comment se développe dans l'intestin

[1]) 8, 529.

[2]) Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte. Année 17, 1887 et Centralblatt f. Bact. 2, 312.

[3]) Centralblatt f. Bact. 11, 225. — Dieser Band S. 339.

[4]) Voir „Wratsch“, Année 1893, No. 1 et Gazeta Lekarska, année 1893. No. 2. Compte-rendu de la séance du 10 janvier 1893 de la Société médicale de Varsovie. — Dieser Band S. 343.

l'activité du mélange des bacilles-virgules avec ces microbes, quels sont les produits qui en résultent, c'est ce que je désignai comme devant faire l'objet des recherches futures sur l'étiologie du choléra. Je me vois d'autant plus obligé à publier cette rectification que Buchner[1]), se basant sur les données erronnées de M. Metchnikoff, parle, dans son résumé, d'une théorie de Nencki et de ses élèves „.... lesquels désignent les espèces favorisantes découvertes par eux sous le nom de Bacillus caspicus, comme quelque chose spécifique".

Il est évident que pour comprendre les maladies intestinales de l'origine microbienne, la connaissance de l'activité des bactéries dans le canal intestinal à l'état normal est absolument nécessaire, et d'autre part personne ne contestera que les recherches faites jusqu'ici ne soient très incomplètes et ne laissent beaucoup à désirer. Je ne puis cependant pas laisser passer la proposition suivante de M. Metchnikoff[2]): „La flore de l'estomac humain est très peu connue; celle de l'intestin grêle de l'homme l'est encore moins", — à moins d'admettre que M. Metchnikoff ignore les recherches de Macfadyen, de Sieber, de Jakowski et les miennes[3]).

M. Jakowski et nous-même avons étudié à plusieurs reprises les bactéries de l'intestin grêle de l'homme non seulement au point de vue morphologique, mais encore à celui de leur action sur l'albumine et les hydrates de carbone. Comme on pouvait s'y attendre, les bactéries qu'on trouve dans l'intestin grêle sont les mêmes qu'on introduit avec la nourriture et conséquemment, à des variations dans les aliments correspondent des variations dans les espèces de bactéries. Nous n'avons pas trouvé un microbe spécifique pour l'intestin grêle comme la sarcine pour l'estomac ou les coli-bacilles pour le gros intestin, ou tout au moins il faut de nouvelles observations pour établir, si les espèces découvertes par le Dr. Jakowski et par nous dans deux cas différents se présentent normalement dans l'intestin grêle de l'homme. De nos recherches découle un fait certain, à savoir que dans l'intestin grêle de l'homme et dans les conditions normales, l'albumine et les albumoses ne sont, dans la règle, pas décomposés ou le sont en quantité minimes par les bactéries. Les microbes se trouvant dans l'intestin grêle décomposent par excellence les hydrates de carbone, avec formation d'alcool éthylique, des acides lactiques isomères, d'acide acétique, d'acide succinique, d'acide carbonique et d'hydrogène. Nous avons isolé directement ces produits du contenu de l'intestin grêle[4]). Chez l'homme, l'albumine et les albumoses sont presque exclusivement décomposés dans le gros intestin, avec formation des produits caractéristiques de la putréfaction, que nous avons isolés. — Les produits acides sus-mentionnés formés du sucre déterminent la réaction acide du contenu de l'intestin grêle, sur tout le trajet de ce dernier jusqu'à la valvule iléo-coecale. — La connaissance de ces faits devrait être de quelque utilité au bactériologiste; ils pourraient lui servir de point de comparaison pour ses trouvailles au sujet des maladies microbiennes de l'intestin, le choléra en particulier, et lui permettre d'en tirer un meilleur parti.

---

[1]) Voir Münchener med. Wochenschrift du 9 octobre 1894, No. 41.

[2]) loc. cit. p. 586.

[3]) Archiv für exper. Path. und Pharm. **28**, 311 et Jakowski dans les Archives des Sciences biologiques de St. Pétersbourg, **1**, 539. — Dieser Band S. 183 u. 264.

[4]) Voir Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **28**, 338. — Dieser Band S. 205.

Ueber das Diphtherie-Heilserum

von

M. Nencki.

Vortrag, gehalten in der Petersburger Pharmaceutischen Gesellschaft am 13. December 1894. — Referirt von Herrn K. Kresling. Pharm. Zeitschr. f. Russland (1894) Nr. 52.

M. H.! Die Errungenschaften auf dem Gebiete der praktischen Medicin und speciell die neue therapeutische Behandlung der Diphtherie mit Heilserum bietet auch für Sie als Pharmaceuten viel Interressantes. In der Serumfrage ist ja bereits von competenter und imcompetenter Seite viel verhandelt, und da mag auch mir, in meiner Stellung als Sachverständiger, ein Wort gestattet sein.

Schon vor 70 Jahren erkannte der französische Arzt Bretonneau in der Diphtherie eine Infectionskrankheit.

Dass die Diphtherieerkrankung in analoger Weise wie bei Milzbrand, Rotz, Tuberculose u. a. durch einen Mikroorganismus hervorgerufen wird, wurde zuerst von Klebs auf dem Congress in Wiesbaden 1883 angegeben. Seine Angaben waren jedoch nicht genau. Aber schon im nächstfolgenden Jahre machte Löffler auf dem Congress für innere Medicin in Berlin hierüber ziemlich genaue Mittheilungen. Es war ihm in vielen Fällen gelungen, den Erreger der Krankheit in den diphtherischen Pseudomembranen von Diphtheriekranken nachzuweisen und ihn auch in Reincultur zu isoliren. Da er aber denselben Bacillus auch in der Mundhöhle gesunder Kinder gefunden hatte, war er mit seinen Schlüssen sehr vorsichtig, und so wurde dann auch erst im folgenden Jahre positiv erwiesen, dass dieser Bacillus in der That der Erreger der Diphtherie ist.

Der Diphtheriebacillus ist ein kurzes, unbewegliches Stäbchen, von etwa der gleichen Länge wie der Tuberkelbacillus, nur etwas dicker. Er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden am besten bei Bruttemperatur und gehört zu den facultativen Anaëroben. Zur ausgiebigen Bildung des Giftes bei Züchtung auf künstlichen Nährböden bedarf er jedoch einer reichlichen Zufuhr von Sauerstoff resp. Luft.

Beim Wachsen im menschlichen Körper ist dieser Mikroorganismus dadurch ausgezeichnet, dass er an einem Orte verbleibt und sich nicht im ganzen Körper, oder, vorsichtiger gesagt, nicht immer und nur spärlich verbreitet. Man findet ihn bei diphtheriekranken Kindern weder im Blut noch in den Organen. Er wirkt aber trotzdem auf entfernte Theile des Körpers, wodurch die charakteristischen Symptome der Diphtherie, wie Ergüsse in die Pleurahöhle, Nierenentzündung, die charakteristische Schwellung der Nebennieren, Lähmungen u. s. w., entstehen. Die Wirkung auf entfernte Theile des Körpers wird durch ein lösliches Gift bedingt, welches die Bacterien am Orte ihrer Vegetation produciren und welches dann in den Körper diffundirt und die diphtherischen Erscheinungen hervorruft. Diese Thatsache ist von Roux und Yersin und früher auch schon von Löffler erkannt worden. Im Gegen-

satz zu denjenigen Bacterien, die durch enorme Vermehrung im Blut und den Geweben, wie z. B. der Milzbrandbacillus, eine schädigende Wirkung auf den Organismus ausüben, gehört der Diphtheriebacillus eben zur Gruppe deren, die durch lösliche, leicht diffundirende Gifte wirken.

Ferner machten Roux und Yersin auch die Beobachtung, dass ältere Diphtherie-Bouillonculturen, wenn sie dieselben durch Filtriren durch ein Thonfilter von den Bacterien befreiten und sie dann Thieren subcutan applicirten, dieselben Erscheinungen hervorriefen, wie sie nach dem Impfen mit lebenden Bacterien beobachtet werden. Diese Forscher haben auch eine Methode zur Isolirung des Diphtheriegiftes beschrieben (Annal. de l'Inst. Pasteur 1888). In ihrer Arbeit, und übrigens auch schon früher von Löffler, wurde die Vermuthung ausgesprochen, dass es möglich wäre, Thiere und Menschen, durch allmähliche Angewöhnung an das Gift, gegen kleine Dosen desselben unempfindlich zu machen und gegen tödtliche zu schützen.

In den Jahren 1889 und 1890 schwebte die Frage der Immunisation bereits in der Luft, und die ersten Versuche in dieser Richtung rühren von Fränkel und fast gleichzeitig auch von Behring her. Die ersten diesbezüglichen Publicationen Fränkel's und Behring's erschienen 1890 und 1891. Behring arbeitete mit Culturen, die er durch chemische Mittel, namentlich Jodtrichlorid, abschwächte. Fränkel dagegen wandte die unveränderten Culturen, nur in sehr minimen Mengen, an. Beide aber bedienten sich ständig steigender Dosen, und auf diese Weise gelang es ihnen, Thiere — Meerschweinchen — gegen tödtliche Dosen des Giftes zu schützen.

Die allmähliche Angewöhnung des Organismus an ein Gift ist ja nichts Neues. Die Arsenesser in Steiermark, die mit kleinen Dosen anfangen, können schliesslich ganz colossale vertragen. Ebenso sehen wir aus der im Jahre 1891 erschienenen Publication Ehrlich's über Abrin und Ricin, dass Mäuse durch allmähliche Angewöhnung schliesslich dahin gebracht werden konnten, dass sie die $1\frac{1}{2}$ millionenfache Menge der tödtlichen Dosis der Gifte vertrugen. Die ricinfesten Mäuse waren jedoch auch nicht abrinfest und umgekehrt, so dass auf diese Weise die Verschiedenheit der sonst ziemlich ähnlichen Gifte nachgewiesen werden konnte.

Behring und Wernicke fanden dann, dass bei immunisirten Thieren der vor Ansteckung schützende Stoff hauptsächlich im Blutserum enthalten ist. Nachdem es Behring und seinen Mitarbeitern gelungen war, sehr hoch immunisirte Thiere zu erhalten, versuchten sie mit dem Serum dieser Thiere andere zu immunisiren und bereits an Diphtherie erkrankte zu heilen. Als Versuchsthiere zum Zweck der Serumgewinnung dienten Anfangs Hunde und Schafe. Das jetzt allein zu diesem Zweck benutzte Pferd wurde von Roux eingeführt. Auch Aronson schreibt sich dieses zu.

Das Anpreisen des Heilserums von Behring erinnert an das Koch'sche Tuberculin. Wie seiner Zeit das Tuberculin, so hat auch das neue Diphtherie-Heilmittel eine mächtige Bewegung hervorgerufen, die alle Schichten der Gesellschaft und alle Länder ergriffen hat. Es besteht aber zwischen Koch einerseits und Behring und Roux andererseits ein grosser Unterschied. Ehe das Diphtherie-Heilserum beim

Menschen angewandt wurde, fielen Tausende von Thieren zum Opfer. Das Tuberculin wurde dagegen direct beim Menschen angewandt.

Der Boden, auf dem die Serumtherapie steht, ist reell. Die neue Therapie ist über das Versuchsstadium schon hinaus, man hat an Thieren positive Resultate und daher auch das Recht, sie beim Menschen anzuwenden.

Wenn die Gegner der Serumtherapie derselben jeglichen Werth absprechen und ihre Anhänger dieselbe in den Himmel erheben, so liegt die Wahrheit, wie überall in solchen Sachen, auch hier in der Mitte. Es wäre schlimm, wenn wir für die Heilung der Diphtherie mit dem Serum am Ende unserer Weisheit wären. Wir müssen immer noch hoffen und uns bemühen, ein besseres Mittel, als das Heilserum es ist, zu entdecken. Zur Zeit kenne ich aber kein Mittel, das besser als Serum wirkte. Ausserdem basirt seine Anwendung auf einer soliden experimentellen Grundlage.

Was nun die Operation bei der Gewinnung des Serums betrifft, so muss man dabei mit mannigfachen Schwierigkeiten kämpfen. Das zur Immunisirung der Thiere dienende Toxin stets rein und concentrirt genug zu erhalten, erfordert viel Sorgfalt und ist so leicht nicht.

Die Immunisirung der Thiere ist zweierlei. Erstens kann man eine Cultur des Diphtheriebacillus in Kalbs- oder Rinderbouillon anlegen, und nachdem sie etwa zwei Tage lang bei Bruttemperatur gewachsen ist, zu derselben bacterienabschwächende Agentien, wie Carbolsäure, Jodtrichlorid, Jodjodkalium und dergleichen hinzufügen, oder aber die Cultur für kurze Zeit auf 45 bis 50° erwärmen. Die so abgeschwächte Cultur wird nun dem zu immunisirenden Thier, Anfangs in minimalen Dosen und vier- bis sechstägigen Intervallen, und dann in immer ansteigenden Dosen, unter die Haut gespritzt. Hat das Thier an die abgeschwächten Culturen sich gewöhnt, so geht man auf eine unveränderte und starke Cultur über. Auch hier fängt man wieder mit minimalen Dosen an und setzt die Injection bei stetiger Steigerung der Dosis so lange fort, bis ein Pferd 500 bis 600 ccm davon vertragen kann.

Zweitens kann man statt der Culturen eine keimfreie Toxinlösung benutzen. Hierbei lässt man aber die Diphtherie-Bouilloncultur vier bis acht Wochen auswachsen (beim längeren Wachsthum ist die Giftigkeit grösser), giesst die abgestandene klare Flüssigkeit von den auf dem Boden befindlichen Diphtheriebacillen ab, filtrirt dieselbe durch ein Papierfilter und setzt etw $^1/_2$ Proc. Phenol hinzu. Durch das letztere werden die in der Flüssigkeit noch nachgebliebenen Bacillen getödtet. Besser als dieses Verfahren ist die Befreiung der Culturen von Bacterien durch Filtriren durch das Chamberland'sche oder Berkefeld'sche, oder auch durch das Diakonow'sche Filter. Eine so bereitete Toxinlösung wird nun in ganz derselben Weise wie die vorige, in stetig ansteigenden Dosen und vier- bis sechstägigen Intervallen, angewandt.

Was nun die Stärke des zur Immunisirung benutzten Toxins anbetrifft, so müssen 0.2 ccm einer zweitägigen Bouilloncultur ein Meerschweinchen von 500 g Körpergewicht in 24 bis 48 Stunden tödten. Die von den Bacterien befreite Toxinlösung soll ebenso stark wirken. Durch Züchtung unter besonders günstigen Bedingungen und durch Concentration (Eindampfen im Vacuum bei 30 bis 35°) kann

man eine Toxinlösung darstellen, von der schon 0.01 bis 0.05 ccm genügend sind, um ein Meerschweinchen von obigem Gewicht und in der gleichen Zeit zu tödten.

Durch allmähliche Angewöhnung kann man die Thiere so weit bringen, dass sie das 1000 fache und mehr der tödtlichen Dosis vertragen. Nun sind aber nicht alle Thierspecies gegen das Diphtheriegift gleich empfindlich, und auch bei verschiedenen Individuen derselben Species kommen in der Reactionsfähigkeit individuelle Schwankungen vor. Pferde sind gegen dieses Gift weniger empfindlich und daher für die Immunisirung und Serumgewinnung am geeignetsten. Man immunisirt die Pferde, indem man ihnen 0.25 ccm des Toxins oder der mit chemischen Agentien abgeschwächten Cultur subcutan injicirt und in vier- bis sechstägigen Intervallen zu immer stärkeren Dosen, entsprechend der Empfindlichkeit eines jeden Thieres, übergeht, bis die Thiere nach Verlauf von 4, 6 bis 10 Monaten gegen 500 bis 600 ccm der starken Toxinlösung resp. Cultur vertragen.

Das Blut und die Gewebe eines solchen Thieres haben nun die Eigenschaft erlangt, das Diphtheriegift unschädlich zu machen, zu neutralisiren, und zwar nicht allein im eigenen, sondern auch im fremden Organismus. Wird nämlich das Serum eines immunen Thieres einem anderen in gewisser Menge subcutan beigebracht, so erlangt auch dieses Thier die Fähigkeit, dem Diphtheriegift zu widerstehen.

Das Serum wird folgendermaassen gewonnen:

Das aus der Vene gelassene Blut wird durch Abstehenlassen bei niederer Temperatur von den morphotischen Elementen, namentlich von den rothen Blutkörpern, befreit. Das sich als gallertartige Masse abscheidende Fibrin schliesst die Blutkörperchen ein und presst zugleich das Serum aus sich heraus. Letzteres sammelt sich über dem Blutkuchen als vollkommen klare, gelbliche Flüssigkeit an und kann leicht abgehoben werden. Dieses Serum macht gegen Diphtherie empfindliche Thiere nicht allein unempfindlich gegen diese Krankheit, sondern es rettet auch solche Thiere vom Tode, die vor der Seruminjection bereits mit einer tödtlichen Dosis Diphtherie geimpft waren. Die Wirkung des Serums ist daher nicht allein eine immunisirende, sondern auch eine heilende.

Vor allem ist die Wirkung des Serums eine specifische. In den meisten Fällen, jedoch nicht in allen, sind die Thiere nur gegen diejenige Krankheit unempfänglich, gegen welche man dieselben immunisirt hat, und man kann eine Krankheit nur mit dem Serum solcher Thiere heilen, die gegen die betreffende Krankheit immunisirt waren. So z. B. kann man die Diphtherie nur mit dem Serum von diphtherieimmunen Thieren und Tetanus nur mit dem Serum von tetanusimmunen Thieren heilen. Dagegen kann man mit den Antitoxinen des Tetanus auch gegen Schlangengift immunisiren.

Ferner besitzen wir ausser Serum noch eine Menge specifischer Mittel gegen notorische Infectionskrankheiten, wie z. B. die Salicylsäure gegen Rheumatismus, Quecksilber gegen Syphilis, Chinin gegen Malaria u. s. w. Diese Mittel sind ohne Mitwirkung von Bacterien entstanden, haben eine höchst einfache Zusammensetzung und sind sogar krystallinisch. Das Heilmittel ist nur das primum movens, ein Reiz, der die chemischen und physikalischen Processe im Organismus anregt, deren Endzweck die restitutio ad integrum ist.

Ueber die Natur des wirksamen Princips im Diphtherie-Heilserum weiss man zur Zeit noch nichts Genaues. Wir kennen nur einige Eigenschaften desselben, und aus diesen zu schliessen, müssen wir dieses wirksame Princip zu der Gruppe der labilen organischen Substanzen, die allerdings die meisten Vertreter unter den Eiweissstoffen haben, zählen. Aber nicht allein die durch Bacterien gebildeten Gifte und das wirksame Princip des Heilserums gehören zu der Gruppe der sogenannten labilen Verbindungen, sondern auch eine Anzahl höchst giftiger Körper, die dem Thier- und Pflanzenreich entstammen. Das Gift der Schlangen und Spinnen, sowie auch das Abrin und Ricin, gehören zu dieser Kategorie. Ihren Eigenschaften nach gleichen diese Körper alle dem labilen protoplasmatischen Eiweiss.

Das in den lebenden protoplasmatischen Zellen enthaltene Eiweiss zeichnet sich dadurch aus, dass es auf mechanische, thermische, elektrische oder chemische Angriffe in bestimmter Weise reagirt. So verträgt das protoplasmatische Eiweiss nicht das Ueberschreiten einer bestimmten oberen Temperaturgrenze, die etwa bei 45° C. liegt, ohne in den inerten, todten Zustand überzugehen. Anhaltende constante oder unterbrochene elektrische Ströme von verschiedener Stärke und von den chemischen Agentien verdünnte Säuren, Alkalien, Metallsalze, Alkohol, eine Reihe aromatischer Verbindungen u. s. w. schwächen die Reactionsfähigkeit des protoplasmatischen Eiweisses ebenfalls ab. Bei längerer Einwirkung oder stärkerer Concentration führen sie es gleichfalls in den todten Zustand über.

Die oben genannten Agentien sind die gleichen, die wir bei organisierten Lebewesen anwenden, wenn wir die einfachste Erscheinung des Lebens, nämlich die Irritabilität, studiren. Die Irritabilität ist das erste Grundphänomen des Lebens und die Brücke, welche die organische Substanz mit der organisirten verbindet. Wie nun einerseits das labile protoplasmatische Eiweiss den Uebergang zu den einfachsten Lebewesen bildet, so hat es andererseits mit den sogenannten Enzymen, Toxalbuminen und Toxinen viel Aehnlichkeit.

Auch die meisten Enzyme und Toxine werden durch Temperaturen von 45° C. zerstört; ebenso durch Lichteinwirkung, elektrischen Strom, verdünnte Säuren, Alkalien, Metallsalze, Alkohol u. s. w. Allerdings giebt es auch hier welche, die Temperaturen von 60, 80, ja sogar von 100° C. vertragen; so z. B. die Viperngifte und das Toxin der Tuberkelbacillen. Einige von diesen Substanzen, wie z. B. das Abrin und Ricin, gehören sicher zu den Eiweisssubstanzen, andere zu den Albumosen und wieder andere, namentlich die leicht diffundirenden, dürften schon eine einfachere Structur haben. Scharfe Unterschiede sind hier nicht zu erwarten, und der Uebergang zu wohlcharakterisirten krystallinischen Producten wird bei diesen „Gruppen in Bewegung" durch eine Reihe von Zwischenstufen vermittelt.

Welche molekulare Structur das lebende Eiweiss und die labilen Gruppen besitzen, ob es die Cyangruppe ist, wie dies Pflüger ursprünglich meinte, oder die Aldehydgruppe nach Loew, oder auch eine andere Gruppe, die die Labilität bedingt, ist vorläufig nicht festzustellen. Zu diesen labilen Molekülen, „Gruppen in Bewegung", gehört nun sowohl das Diphtherie-Toxin, als auch das Diphtherie-Antitoxin.

Hinsichtlich der Frage, ob in dem Heilserum Giftstoffe und vaccinirende Stoffe neben einander vorkommen, äussert sich Behring in seiner Schrift: „Die Geschichte der Diphtherie", S. 172, dahin, dass Alles dafür spreche, dass die giftige und die immunisirende Substanz identisch seien. Diese Erklärung ist jedoch unklar, da Toxine und Antitoxine wohl gleicher Abstammung, aber unmöglich identisch sein können.

Ueber die Entstehung der Antitoxine im Organismus als Folge der Immunisirung ist noch nichts bekannt. Man weiss nicht, ob sie durch Umwandlung der Toxine entstehen, oder als Product einer durch den Einfluss der Toxine verursachten besonderen Thätigkeit der Zellen zu betrachten sind. Ebenso herrscht auch noch volles Dunkel über die Wirkung der Antitoxine. Ob sie als chemische Gegengifte aufzufassen sind, oder ob sie eine besondere Thätigkeit der Zellen, im Sinne der Phagocytose Metschnikoff's, oder auch einer anderen Art hervorrufen, lässt sich noch gar nicht angeben.

Ausserhalb des Thierkörpers Antitoxine darzustellen, ist Dr. Smirnoff in meinem Laboratorium gelungen, und zwar durch Einwirkung des elektrischen Stromes auf giftige Diphtherie-Bouillonculturen.

So wenig wir auch mit der Natur und speciell mit den chemischen Eigenschaften des Diphtherie-Antitoxins bekannt sind, so sind wir trotzdem schon im Stande, dasselbe quantitativ zu bestimmen und zu dosiren, und zwar auf dem Wege des physiologischen Versuchs.

Die Stärke des Heilserums verschiedenen Ursprungs ist nicht gleich. Nach den Angaben Heubner's (D. med. Wochenschrift 1894, Nr. 36) ist in Höchst als Grundlage für die Bestimmung der Stärke des Serums eine Toxinlösung angenommen, von der 0.2 ccm genügend sind, um ein Meerschweinchen von 500 g Körpergewicht zu tödten. Als Antitoxinnormaleinheit wird dort ferner ein Serum angenommen, von welchem 0.1 ccm genügend ist, um 1 ccm der Normalgiftlösung zu neutralisiren. Ein Serum, von dem 0.01 ccm — 1 ccm der Normalgiftlösung neutralisirt, hat also 10 Antitoxinnormaleinheiten. Das von den Höchster Farbwerken in den Handel gebrachte Heilserum hat in 10 ccm (soviel enthalten die Fläschchen) bei Nr. 1 — 600, bei Nr. 2 — 1000 und bei Nr. 3 — 1500 Antitoxinnormaleinheiten.

Roux und Nocard beziehen die Stärke des Serums auf das Körpergewicht der Thiere. Ein Serum, von dem 1 ccm genügt, um 10 000 g Meerschweinchen zu immunisiren, hat eine Stärke von 1 : 10 000. Immunisirt 1 ccm Serum 100 000 g Meerschweinchen, so hat es eine Stärke von 1 : 100 000 u. s. w.

Das Schering'sche Diphtherie-Antitoxin wird vorläufig nur in einer Stärke abgegeben, und zwar paralysirt 0.001 ccm des Serums eine Diphtheriegiftmenge, an der Meerschweinchen im Gewicht von 300 g in etwa 36 Stunden und ganz grosse Thiere (600 bis 700 g) in 48 bis 60 Stunden sterben.

Das Serum ist bereits in die Praxis eingeführt und kann man dasselbe zur Zeit nur aus den drei obengenannten Quellen beziehen, die aber lange nicht im Stande sind, allen an sie gestellten Forderungen zu genügen. Die Fabrikation wird natürlich weiter gedeihen, und die Theilnahme der Pharmacie in Russland an dieser Sache wird davon abhängen, wie sich die Pharmaceuten selbst dazu stellen. Früher waren

wir daran gewöhnt, dass die Arzneimittel in den Apotheken bereitet wurden, jetzt dagegen spielen die Fabriken die Hauptrolle. Warum das so ist, liegt ja auf der Hand. Die Entfremdung zwischen Arzt und Apotheker lässt ein gemeinsames, auf gegenseitige Unterstützung basirendes Wirken nicht zu. Sie ist dadurch entstanden, dass die Pharmaceuten dem Fortschritte der Naturwissenschaften nicht genügend gefolgt sind resp. durch ihre ungenügende Vorbildung nicht folgen können. Die moderne Medicin schwenkt immer mehr und mehr in die Richtung der physiologischen resp. der Gewebs- und Serumtherapie ein. Die Herstellung der modernen Heilmittel beruht aber vorzugsweise auf Kenntniss der Bacteriologie, und so lange der Apotheker dieses Gebiet nicht beherrscht, wird in seinem Verhältniss zum Arzt kein Umschwung eintreten, im Gegentheil, die Entfremdung wird eine immer schroffere werden. Ich habe schon einmal an dieser Stelle meine Ansichten in dieser Angelegenheit geäussert und meine Meinung auch schriftlich niedergelegt [1]), wie es Ihnen ja bekannt ist. Die Reform des pharmaceutischen Bildungswesens ist zur Zeit eine wichtige und brennende Frage.

Was nun die Versorgung Russlands mit dem Heilserum betrifft, so wären folgende Eventualitäten in Betracht zu ziehen:

1. Bezug des Heilserums aus dem Auslande;
2. Herstellung desselben an einer Centralstelle, oder
3. an mehreren Centralstellen, und
4. Versorgung der Provinzialstationen durch die Centralstellen mit dem zur Immunisirung der Thiere erforderlichen Diphtherie-Toxin.

Der Bezug aus dem Auslande ist nicht allein in ökonomischer Hinsicht zu widerrathen, sondern er bringt uns auch in ein Abhängigkeitsverhältniss, das gelegentlich recht unbequem werden kann. Bei der Grösse des Reiches ist die Centralisation der Herstellung wohl zu erwägen, denn bei den colossalen Entfernungen kommt schon an und für sich die Dauer des Transportes in Betracht, zumal es noch nicht bekannt ist, wie lange sich das Präparat wirksam erhält. Nicht minder ernste Erwägung erfordert auch der Umstand, dass das Präparat bei der Versendung gelegentlich bedeutenden Temperaturschwankungen ausgesetzt wird. Die Errichtung mehrerer Centralstellen erfordert allerdings viele Mittel und ist die Controle derselben schwer zu handhaben, sie ist aber entschieden zweckentsprechend. Nicht weniger zweckentsprechend und dabei in ökonomischer Hinsicht am meisten empfehlenswerth ist die Herstellung des zur Immunisirung dienenden Toxins an den Centralstellen und Versendung an die kleinen Stationen in der Provinz. Auf diese Weise erhalten grössere Ortschaften die Möglichkeit, auch ohne Errichtung eines kostspieligen bacteriologischen Laboratoriums ihren Bedarf an Serum selbst darzustellen. Das Toxin lässt sich gut transportiren, verdirbt nicht so schnell, und ausserdem garantirt die Centralstelle für seine Qualität. Die Immunisirung der Thiere und die Gewinnung des Serums erfordern keine besondere Einrichtung und auch keine so gründlichen Kenntnisse in der Bacteriologie als die Bereitung des

[1]) Pharm. Zeitschr. für Russland 1893. — Dieser Band S. 349.

Toxins. Die Prüfung des Serums auf seine Wirksamkeit kann ja gleichfalls auf den Centralstationen geschehen.

Viele von diesen Operationen können Pharmaceuten übernehmen, und namentlich lassen sie sich zur Darstellung der Toxine heranziehen, aber auch nur dann, wenn sie in der Chemie und Bacteriologie eine gute Schulung erhalten haben. Eine gründliche Ausbildung der Pharmaceuten in dieser Richtung ist um so wünschenswerther, als nicht allein die Darstellung der Heilmittel aus den Bacteriengiften, sondern auch die sogenannte Gewebstherapie mit jedem Tage mehr und mehr an Boden gewinnt.

1895

Zur Kenntniss der pankreatischen Verdauungsproducte des Eiweisses

von

M. Nencki.

Ber. **28**, 560. — Eingegangen am 9. März. — Pamiętnik Towarzystwa Lekarskiego w Warszawie **91**, 398.

Bei der Lectüre des vor zwei Jahren erschienenen Lehrbuchs der chemischen Physiologie und Pathologie von Dr. W. D. Halliburton, in deutscher Uebersetzung von Dr. K. Kaiser [1]), wurde ich auf S. 684 des Buches durch eine für mich seltsame Angabe überrascht. Es werden dort die Spaltungsproducte des Hemipeptons, nämlich Leucin, Tyrosin, Ammoniak, Asparaginsäure und das Proteïnochromogen aufgezählt. Dann heisst es weiter: „Das Proteïnochromogen ist eine zuerst von Gmelin beschriebene Substanz, welche mit Chlor oder Brom ein röthlich-violettes Product, Proteïnchrom, giebt. Diese Bezeichnungen wurden von Stadelmann vorgeschlagen, welcher in neuerer Zeit diese Stoffe untersuchte. Nencki betrachtet das Proteïnchromogen als Naphtylamin, eine Ansicht, deren Unhaltbarkeit von Krukenberg und Hemala nachgewiesen wurde." Dabei wird im Citat auf eine von mir in Ber. **7**, 1593 veröffentlichte Arbeit verwiesen. — Ich habe mich mit diesem, zuerst von Gmelin durch die violette Färbung mit Brom oder Chlor charakterisirten Körper bis dahin nie beschäftigt und auch nie eine Aeusserung über seine Natur und Zusammensetzung gethan. Hr. Halliburton hat die von ihm citirte Arbeit nicht gelesen, sonst hätte er gesehen, dass ich den fraglichen Körper mit keiner Silbe erwähne. — Das Wort Chlor oder Brom kommt in der citirten Abhandlung gar nicht einmal vor! Die Publication von Krukenberg und Hemala konnte ich mir im Original nicht verschaffen. Beim Durchlesen der Arbeit von Stadelmann [2]) fand ich aber, dass

[1]) Winter's Verlag in Heidelberg 1893.

[2]) Zeitschr. f. Biologie **26**, 491—526 (1890).

Hr. Halliburton, der, wie sein Buch zeigt, der Chemie ziemlich fern steht, irregeführt wurde, und zwar dadurch, dass alle die drei genannten Autoren unbegreiflicher Weise meine Angaben über die Eigenschaften des Indols und Naphtylamins auf das Proteïnochromogen bezogen haben.

Das Indol als Spaltungsproduct der Eiweissstoffe durch Bacterien habe ich vor 20 Jahren dargestellt [1]). In verschiedenen Handbüchern der Physiologie wird die Entdeckung des Indols aus Eiweiss W. Kühne zugeschrieben. Der Antheil W. Kühne's an dieser Auffindung besteht darin, dass er zuerst beobachtete, dass die Verdauungsflüssigkeit beim längeren Stehen einen unerträglichen [2]) Geruch, „ähnlich dem des Naphtylamins oder des Indols entwickele", und zur Zeit, wo ich das Indol aus Eiweiss rein erhalten und analysirt habe, schrieb Kühne [3]), dass man kaum hoffen könne, das Indol auf diesem Wege in hinreichenden Mengen rein für Analysen zu gewinnen. Gerade mit Rücksicht auf die Aeusserung Kühne's, dass der unerträgliche Geruch, den die protrahirte künstliche Eiweissverdauung mit Pankreas entwickelt, nicht durch Naphtylamin, sondern durch Indol bedingt sei, hob ich hervor, dass zwar Indol ähnlich wie Naphtylamin mit Wasserdämpfen flüchtig sei und dass wässerige Naphtylaminlösung mit Salpetersäure einen purpurrothen Niederschlag (Piria's Naphtameïn) giebt, dieser rothe Farbstoff aber, von dem rothen Körper, den man durch Zusatz von rauchender Salpetersäure zu wässeriger Indollösung erhält, wesentlich verschieden sei. Stadelmann citirt diesen Passus aus meiner Arbeit, muss also gesehen haben, dass darin von dem Gmelinschen Körper, der mit Brom den violetten Farbstoff giebt, keine Rede ist, und trotzdem betont er, gegen mich sich wendend, dass dieser Körper gar nicht flüchtig sei.

Da ich nun in so unliebsamer Weise mit dem Proteïnochromogen in Verbindung gebracht und mir die chemische Ungeheuerlichkeit, ein complexes Eiweissderivat als mit Wasserdämpfen flüchtig zn erachten, zugemuthet wurde, so hat es mich interressirt, nähere Bekanntschaft mit dieser Substanz zu machen. Indem ich bezüglich der bisherigen Untersuchungen hierüber auf die ausführliche Publication von Stadelmann verweise, will ich nur hervorheben, dass bis jetzt die Muttersubstanz des Bromkörpers — das Proteïnochromogen — nicht isolirt und analysirt wurde. Auch das Bromsubstitutionsproduct — das Proteïnochrom Stadelmann's — ergab ihm bei der Analyse der verschiedenen Fractionen keine übereinstimmenden Zahlen. Stadelmann erhielt für die drei möglichst von ihm gereinigten Präparate folgende Zahlen [4]):

	A	C	D	
C	49.00	51.34	48.12	Proc.
H	5.28	4.45	5.09	„
N	10.99	10.06	11.92	„
Br	19.95	23.16	19.77	„
S	3.77	2.95	3.10	„

[1]) Ber. **7**, 1593; **8**, 336, 722, 1517. — Nencki's Opera omnia **1**, 92, 113, 115, 123.
[2]) W. Kühne, in Virch. Arch. **39**, 165.
[3]) Ber. **8**, 207.
[4]) Zeitschr. f. Biologie **26**, 521.

Nach mehrfachen Versuchen bin ich bei folgendem Darstellungsverfahren des Bromkörpers stehen geblieben.

Um möglichst wenig einfach gelöstes Eiweiss zu haben, wurde das Pankreas ohne jeden Fibrinzusatz der Selbstverdauung überlassen. Je 1500 g der vom Fett herauspräparirten und klein zerhackten Drüse wurden mit drei Liter Wasser übergossen und, um die Fäulniss abzuhalten, mit 15 bis 20 ccm Chloroform versetzt. Im Ganzen wurden auf die Weise etwa 30 kg Pankreas verarbeitet. Nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur und häufigem Umschwenken wurde die Flüssigkeit durch ein Tuch colirt, zum Sieden erhitzt, von dem geronnenen Eiweiss filtrirt und nach dem Erkalten mit 5 proc. wässeriger Sublimatlösung gefällt. Im Gegensatz zu den Angaben von Krukenberg und Stadelmann[1]) fand ich, dass das Proteïnochromogen durch Sublimat nicht gefällt wird, wohl aber die Xanthinkörper. Der Quecksilberniederschlag wurde abfiltrirt, das Filtrat, wie weiter unten angegeben, verarbeitet und der Quecksilberniederschlag, nachdem er sorgfältig ausgewaschen, in Wasser suspendirt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die von dem Schwefelquecksilber heiss filtrirte Lösung wurde auf dem Wasserbade bis zu beginnender Abscheidung concentrirt. Es scheidet sich zuerst in braunen Krusten das Xanthin und, wenn zu weit eingedampft, auch das salzsaure Guanin krystallinisch ab. Nach 24 stündigem Stehen in der Kälte wurde vom Xanthin abfiltrirt und die Mutterlauge bis zu beginnender Krystallisation weiter auf dem Wasserbade eingedampft. Beim Stehen in der Kälte krystallisirt jetzt das salzsaure Guanin, mit etwas Xanthin und Hypoxanthin vermengt, aus. Von den beiden letzten Körpern kann das Guanin leicht durch Auflösen in Salzsäure und Zusatz von Ammoniak im Ueberschusse, wodurch nur Guanin gefällt wird, getrennt werden. Um das Xanthin rein zu erhalten, wurden die zuerst abgeschiedenen braunen Krusten in das salzsaure Salz verwandelt, dieses in Ammoniak gelöst, vom Ungelösten wiederholt filtrirt und schliesslich mit Essigsäure gefällt. Aus den Mutterlaugen des Guanins erhielt ich noch die Krystalle des salzsauren Hypoxanthins, woraus durch mehrfache, fractionirte Krystallisation, Auflösen in Kali und Fällen mit Essigsäure schliesslich reines Hypoxanthin isolirt wurde (gef. N 41.30 Proc., ber. 41.18 Proc.).

Neben dem Hypoxanthin habe ich aus den Mutterlaugen nach dem Neutralisiren mit Soda aus der heiss filtrirten Lösung die Doppelverbindung von Adeninhypoxanthin in Form von schleimigen Massen, die beim Stehen von kreideweissen Punkten durchsetzt werden, genau wie sie G. Bruhns[2]) als charakteristisch für diese Doppelverbindung beschreibt, erhalten. Alle also dem Zellkern eigenthümlichen Basen sind bei der Selbstverdauung des Pankreas in dem Quecksilberniederschlage enthalten. Erwähnen möchte ich noch eine schon früher von mir gemachte Beobachtung, dass, wenn das enteiweisste Pankreasinfus, statt mit Sublimat, mit Pikrinsäure versetzt wird, ein amorpher und ein krystallinischer gelber Niederschlag entsteht. Der erstere ist die Verbindung von Pikrinsäure mit Glutin, der krystallinische das pikrinsaure Salz des Pentamethylendiamins[3]), $C_5H_{14}N_2 . [C_6H_2(NO_2)_3OH]_2$.

[1]) Zeitschr. f. Biologie **26**, 496 und 503.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **14**, 562.
[3]) Vergl. Werigo, in Pflüger's Arch. f. Physiol. **51**, 362. — Dieser Band S. 267.

Das Quecksilberfiltrat wurde nach Entfernung des gelösten Quecksilbers durch Schwefelwasserstoff und des überschüssigen Schwefelwasserstoffs durch einen Luftstrom Anfangs mit Soda, zuletzt mit Natriumacetat so weit neutralisirt, dass die Flüssigkeit nur schwach sauer reagirte, und bei gelinder Wärme auf dem Wasserbade etwa auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingedampft. Nach dem Erkalten krystallisirt in den nächsten 24 Stunden in reichlicher Menge in schneeweissen Nadeln das Tyrosin aus, so dass ich dieses Verfahren zur Gewinnung des Tyrosins ganz besonders empfehlen kann. In dem Tyrosinfiltrate findet sich das Proteïnochromogen vermengt mit Peptonen, den Amidosäuren der Fettreihe und anderen noch nicht isolirten Producten.

Aus dem Tyrosinfiltrate habe ich das Proteïnochrom — den violetten Bromkörper — bereitet, indem ich es mit Bromwasser vorsichtig versetzte. Bezüglich der Bildung des Bromniederschlages und seiner Eigenschaften habe ich alle Angaben Stadelmann's bestätigen können. Bei richtigem Bromzusatz ist die Farbe des Niederschlages violettroth. Ist zuviel zugesetzt worden, dann fällt er schmutzig braun aus. Ich bemühte mich stets, nur den violetten Niederschlag zu erhalten, will aber gleich hier bemerken, dass man so auf keinen Fall ein einheitliches Product, sondern stets ein Gemenge von Bromsubstitutionsproducten erhält, deren Trennung und Reindarstellung weder Stadelmann noch mir bis jetzt gelang. — Der nach Bromzusatz und mehrstündigem Stehen abfiltrirte violette Niederschlag wurde mit Wasser vollkommen ausgewaschen, auf Fliesspapier und hierauf im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, dann gepulvert und zur Entfernung des etwa anhängenden Fettes im Extractionsapparate, mit Aether, worin das Product nur sehr wenig löslich ist, behandelt. In absolutem Alkohol ist die Substanz ebenfalls wenig löslich, viel leichter in 70- bis 80 proc. Spiritus. Ich habe daher 40 g des Productes in 600 g 80 proc. Alkohols auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt und heiss filtrirt. Aus dem Filtrate schied sich beim Erkalten ein Theil des Farbstoffes in violetten amorphen Körnern ab. Der Kolbenrückstand wurde noch einmal mit 80 proc. Alkohol ausgekocht, und auch jetzt erhielt ich beim Erkalten des Filtrates anscheinend den gleichen violetten Körper, der unter dem Mikroskope ebenfalls ganz homogen zu sein schien. Die beiden Fractionen wurden mit Alkohol ausgewaschen, über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt. Die Elementaranalysen aber zeigten, dass die beiden Fractionen durchaus nicht die gleiche Zusammensetzung hatten. So wurde gefunden: in der Fraction I: C 45.38, H 4.91, N 11.97, Br 15.67, S 0.92 Proc. und in der Fraction II: C 47.40, H 4.32, N 11.45, Br 19.19, S 1.20 Proc. Beide Fractionen waren aschefrei.

Wie schon erwähnt, ist der Bromkörper in Aether und absolutem Alkohol nur wenig löslich. Die Lösung ist aber schön roth, ohne den Stich in's Bräunliche zu haben. Ich habe daher 100 g des trockenen und gepulverten Rohproductes zuerst mit Benzol behandelt und hierauf in einem Extractionsapparate in der Wärme mit absolutem Alkohol extrahirt. Durch die Alkoholdämpfe wurde etwa der fünfte Theil der Substanz gelöst. Die alkoholische Lösung wurde verdunstet und der Rückstand mit heissem Wasser übergossen. In die wässerige Lösung ging eine Substanz über, die nach dem Verdunsten des Wassers als gelblicher Syrup hinterblieb,

welcher mit Natronlauge und Kupfersulfat sehr schön die für die Peptone charakteristische Biuretreaction gab. Es wurde deshalb eine grössere Partie des Farbstoffes so lange mit warmem Wasser gewaschen, bis das verdampfte Waschwasser nur etwas von dem gelösten Farbstoff, aber nicht mehr den die Biuretreaction gebenden Körper enthielt. Der nur einmal mit heissem Wasser extrahirte Farbstoff, sowie der vollkommen ausgewaschene wurden nunmehr über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt. Es ergab Fraction I nicht ganz ausgewaschen: 21.96 Proc. Br und 0.52 Proc. S. Fraction II vollkommen mit Wasser extrahirt: C 46.74, H 3.70, N 8.51, Br 27.2 und 27.31, S. 0.51 Proc.

In verdünnten, fixen Alkalien war dieses Präparat leicht mit schön rother Farbe löslich. Die Lösung bräunt sich an der Luft. In Ammoniak ist der Farbstoff wenig löslich. Aus der alkalischen Lösung wird er durch Säuren gefällt. Durch reducirende Agentien, namentlich in saurer Lösung (Eisessig und Zinkstaub) wird die Lösung leicht entfärbt; aus der strohgelben Lösung fällt das Reductionsproduct in amorphen Flocken aus, die aber noch immer Brom enthalten. Auf Platinblech erhitzt, giebt der Farbstoff eine voluminöse, schwer verbrennbare Kohle, ohne den Geruch nach verbranntem Horn oder Blausäure zu entwickeln, und hinterlässt eine Spur Asche, hauptsächlich aus Eisen bestehend.

Der Umstand, dass der rothe Farbstoff durch nascirenden Wasserstoff entfärbt wird, veranlasste mich, auch den in Alkohol unlöslichen braunen Bromkörper der Einwirkung reducirender Agentien zu unterwerfen. 50 g dieser Substanz wurden mit einem Gemisch von 400 g Alkohol und 100 g conc. Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt, die Flüssigkeit mit granulirtem Zink versetzt und 10 Stunden lang auf dem Wasserbade am Rückflusskühler im Sieden erhalten. Als der grösste Theil der Substanz gelöst wurde, habe ich filtrirt, den grössten Theil des Alkohols aus dem Filtrate abdestillirt und den Rückstand mit viel Wasser versetzt, wodurch ein gelbbrauner, flockiger, amorpher Niederschlag in reichlicher Menge entstand. Der abfiltrirte und sorgfältig mit Wasser ausgewaschene Niederschlag wurde getrocknet; er wog 15 g und war aschefrei. Zur weiteren Reinigung habe ich die Substanz noch in Eisessig gelöst, filtrirt, aus dem Filtrate mit viel Wasser gefällt und nach vollständigem Auswaschen des Niederschlages über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt. Das Product ergab bei den Verbrennungen: C 47.56, H 3.63, N 7.94, Br 20.56, S 2.28 und 2.18 Proc.

Die Ergebnisse der Analysen sind daher wenig befriedigend. Durch Bromzusatz zu der Verdauungsflüssigkeit werden zum Mindesten zwei verschiedene Körper gebildet, von denen derjenige, der in geringerer Menge entsteht, sich durch einen hohen Bromgehalt (27 Proc.) und geringen Schwefelgehalt (0.5 Proc.) auszeichnet, während der andere braune Körper weniger Brom (20.5 Proc.), dagegen bedeutend mehr Schwefel (2.2 Proc.) enthält. Möglicher Weise ist der erste, rothe Farbstoff in reinem Zustande völlig schwefelfrei. Spectroskopisch zeichnet sich der rothe Farbstoff durch ein Absorptionsband im Grün aus, das bei passender Verdünnung, sowohl in alkoholischer Lösung, namentlich nach Zusatz von etwas Salzsäure, als auch in schwach alkalischer Lösung sichtbar ist. An der Luft verblasst die anfangs violettroth, wie venöses Blut gefärbte Lösung, und damit verschwindet auch das Spectral-

band. Ist der rothe Farbstoff mit dem braunen vermischt, wie dies z. B. der Fall war bei den zwei zuerst analysirten Fractionen mit 1 Proc. Schwefel, so wird nur das Roth durchgelassen, während das ganze übrige Spectrum gleichmässig verdunkelt ist.

Wenn auch die isolirten Bromproducte sicher nicht rein sind, so bieten sie doch in einem Punkte ein hohes Interesse. Berechnen wir die procentische Zusammensetzung des rothen und des braunen Farbstoffs auf bromfreie Substanz und vergleichen sie mit der einiger thierischer Pigmente, so ist Aehnlichkeit in der Zusammensetzung gar nicht zu verkennen.

Der rothe Farbstoff bromfrei berechnet enthält:	Hämatoporphyrin u. Bilirubin $= C_{16}H_{18}N_2O_3$ enthalten:
C 64.2 Proc.	C 67.13 Proc.
H 5.1 „	H 6.29 „
N 11.7 „	N 9.79 „
S 0.7 „	

Viel auffallender ist die Aehnlichkeit zwischen dem braunen Farbstoff und den thierischen Melaninen.

	Der braune Farbstoff bromfrei berechnet enthält	Hippomelanin [1])	Hippomelaninsäure [2])	Das schwarze Pigment der Pferdehaare [3])
C . . .	59.8 Proc.	54.0 Proc.	59.93 Proc.	57.6 Proc.
H . . .	4.5 „	3.8 „	3.86 „	4.2 „
N . . .	10.0 „	10.6 „	10.41 „	11.6 „
S	2.8 „	2.8 „	2.6 „	2.1 „

Aber nicht allein die nahe procentische Zusammensetzung spricht dafür, dass das bei der Einwirkung des Pankreasfermentes auf Eiweiss entstehende Proteïnochromogen, oder vielleicht die Proteïnochromogene die Muttersubstanzen der thierischen Farbstoffe sind. Es ist uns bis jetzt nicht gelungen, aus dem Hämatin, Hämatoporphyrin, Bilirubin oder den thierischen Melaninen durch die üblichen Reagentien in glatter Weise einfachere Umwandlungsproducte zu erhalten, die uns Aufschluss über die chemische Constitution ihres Moleküls gegeben hätten. Hervorzuheben wäre nur, dass beim Schmelzen mit Kali Hämatin und Hämatoporphyrin viel Pyrrol entwickeln und dass Hämatoporphyrin, mit Zinn und Salzsäure in alkoholischer Lösung reducirt, nach dem Uebersättigen mit Alkali, den charakteristischen Geruch nach Skatol entwickelt [4]). Fast die gleichen Erfahrungen haben wir mit den Bromkörpern gemacht. Es gelang mir bislang nicht, daraus durch Oxydations-, Reductions- oder Hydratationsagentien einfacher zusammengesetzte, krystallinische Producte

[1]) Vergl. Nencki und Berdez: Ueber die Farbstoffe der melanotischen Sarkome. Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 346. — Nencki's Opera omnia **1**, 806.

[2]) Erhalten durch Schmelzen von Hippomelanin mit Kali. Vergl. Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **24**, 18. — Dieser Band S. 32.

[3]) Nach N. Sieber im Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **20**, 362. — Nencki's Opera omnia **1**, 818.

[4]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **24**, 444. — Dieser Band S. 85.

zu erhalten. Gleich aber wie die genannten Derivate des Blutfarbstoffs giebt das rohe Bromproduct mit Kali geschmolzen anfangs Pyrrol, später viel Ammoniak, und aus der mit Essigsäure angesäuerten Schmelze entweicht Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan, sodann gehen beim Destilliren in reichlichen Mengen Skatol und Indol über. In einem Versuche, wo ich 3 g des Bromkörpers mit 30 g Kalihydrat fünf Minuten lang geschmolzen habe, erhielt ich das Skatol in reinem Zustande als pikrinsaures Salz.

Gelegentlich meiner Untersuchungen über die Zersetzung des Eiweiss durch die anaëroben Spaltpilze habe ich in Uebereinstimmung mit E. Salkowski gezeigt, dass in dem Eiweissmolekül drei aromatische Gruppen, nämlich: das Tyrosin, die Phenylamidopropionsäure und die Skatolessigsäure, enthalten sind [1]). Leim unterscheidet sich unter anderem dadurch von Eiweiss, dass er nur eine aromatische Gruppe, d. h. die Phenylamidopropionsäure in seinem Molekül enthält. Aus der Skatolessigsäure können durch Oxydation Skatolcarbonsäure, Skatol und Indol entstehen, und es ist interessant, dass die Muttersubstanz der Indigogruppe wahrscheinlich auch die Muttersubstanz vieler thierischer Farbstoffe ist. Selbstverständlich bedarf es noch weiterer Beweise für diese Hypothese. Die Hauptschwierigkeit bildet die Isolirung des Proteïnochromogens in reinem Zustande. Ich setze jedoch diese Untersuchungen fort und habe Grund zu hoffen, dass meine Bemühungen nicht erfolglos sein werden. Die Spaltung des Eiweiss durch das Pankreas hätte dann nicht als ausschliesslichen Zweck die Verdauung, d. h. die Auflösung des Eiweissmoleküls in einfachere Verbindungen, die dann in den Geweben bis zu den Endproducten des Stoffwechsels verbrannt werden. Es würden vielmehr dabei auch Producte gebildet, wie speciell das Proteïnochromogen, das zum Aufbau der Gewebebestandtheile, wie des Blutfarbstoffes und der anderen thierischen Pigmente direct verwendet wird.

Petersburg, im März 1895.

Ueber das Vorkommen von Sulfocyansäure im Magensafte

von

M. Nencki.

Ber. **28**, 1318. — Eingegangen am 20. Mai, mitgetheilt von Herrn A. Bistrzycki.

Im vergangenen Jahre habe ich in einer gemeinschaftlich mit C. Schumow-Simanowski [2]) publicirten Arbeit mitgetheilt, dass reiner, speichelfreier Magensaft von oesophago- und gastrotomirten Hunden in geringen Mengen Sulfocyansäure ent-

---

[1]) Vergl. hierüber M. Nencki und L. Selitrenny in Monatsh. f. Chem. 1889, **10**, 506 und 908. — Dieser Band S. 101 u. 118.

[2]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **34**, 332. — Dieser Band S. 487.

hält. In der Hoffnung, dass es vielleicht gelingen wird, aus dem Safte die Sulfocyansäure in für Analysen hinreichenden Mengen zu erhalten, habe ich im Laufe des vergangenen Winters 2.5 Liter reinen Magensaftes vom gleichen Hunde gesammelt. Ueberdies hatte ich 600 ccm Saft von Prof. Pawlow erhalten, herrührend von einem Hunde mit künstlichem Magenblindsack. Ich bemerke, dass in beiden Fällen der Saft vollkommen speichelfrei war. Leider scheiterte mein Vorhaben nicht allein an der geringen Menge der Sulfocyansäure im Safte, sondern auch in Folge des Umstandes, dass der reine Magensaft, wenn auch in minimaler Menge, noch andere in Aether lösliche Substanzen enthielt, von denen die Sulfocyansäure nur mit Verlusten getrennt werden konnte. Der frisch erhaltene Saft wurde jedesmal genau mit Soda neutralisirt, auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft und der trockene Rückstand aufbewahrt. Die so von 2.5 Liter des Saftes gesammelten Rückstände wurden mit Salzsäure zerlegt und die Sulfocyansäure mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aetherauszuges auf ein kleines Volumen wurde wässeriges Ammoniak zugesetzt und die Flüssigkeit 20 Stunden stehen gelassen. Danach bildeten sich in der wässerigen Schicht farblose Krystallnadeln, die das Ammoniaksalz einer organischen, wasserlöslichen Säure waren, die durch Eisenchlorid nicht gefärbt wurde. Auf Platinblech verbrannte das Salz, ohne einen charakteristischen Geruch zu entwickeln, und zu weiterer Untersuchung reichte die Menge der erhaltenen Krystalle nicht aus. Das Filtrat von den Krystallen wurde zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit etwas salpetersäurehaltigem Wasser, wobei relativ ziemlich viel Fettsäuren ungelöst zurückblieben, aufgenommen, filtrirt und mit Silbernitrat gefällt. Der getrocknete Silberniederschlag enthielt jedoch nur 61.2 Proc. Ag und 14.3 Proc. S, während die Formel $CNSAg$ 65.06 Proc. Ag und 19.27 Proc. S verlangt. Offenbar war dem Rhodansilber etwas fettsaures Silber beigemengt, und es dürfte zweckmässiger sein, bei Wiederholung des Versuches die Sulfocyansäure als Kupferrhodanür auszufällen. Dass jedoch dieser Niederschlag wesentlich aus Rhodansilber bestand, unterliegt keinem Zweifel. Werden etwa 200 ccm des Magensaftes mit Soda neutralisirt und zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt, so geht die Sulfocyansäure nahezu vollständig in den Aether über. Nach dem Abdestilliren des Aethers und Neutralisation mit Ammoniak giebt die wässerige Lösung mit Eisenchlorid intensive Rothfärbung, die durch Weinsäure zum Verschwinden gebracht wird und nach Zusatz von Salzsäure wieder auftritt. Schwefelsaures Kupferoxyd giebt damit eine smaragdgrüne Färbung (Reaction von Colasanti), und durch schwefligsaures Kupferoxydul entsteht in der Lösung ein weisser amorpher, in Wasser unlöslicher, in Ammoniak löslicher Niederschlag von Kupferrhodanür. Aus dem Schwefelgehalte des Silberniederschlages berechnet, würde der Sulfocyansäuregehalt im frischen Magensafte etwa 5 mg im Liter betragen. Eine wässerige Lösung von Rhodankalium, die im Liter 5 mg Sulfocyansäure enthält, giebt mit Eisenchlorid die gleiche Farbennüance wie durchschnittlich der Magensaft. Je reicher der Magensaft an Pepsin ist, je mehr sich daraus beim Abkühlen auf 0° körniges Pepsin ausscheidet, um so intensiver fällt in solchem Safte die Rhodanreaction aus. Ich habe auf gleiche Weise wie den Magensaft 1 kg Blut, 2.5 kg Muskelfleisch und 600 g Leber vom Hunde auf Sulfocyansäure verarbeitet. Nur

mit dem Blutextracte erhielt ich eine unsichere Reaction. Die Proben mit Muskel und Leber fielen negativ aus. In 300 g pankreatischen Saftes, nach der Methode von Pawlow von zwei verschiedenen Hunden gewonnen, war keine Sulfocyansäure nachweisbar, was um so bemerkenswerther ist, als der ebenfalls alkalisch reagirende Mundspeichel bekanntlich Rhodanalkali enthält. Reiner, speichelfreier Magensaft von oesophago- und gastrotomirten Katzen ist, wie mir Herr Dr. Rjasantzew mittheilt, ebenfalls rhodanhaltig. Auf das Vorkommen von Rhodan im menschlichen Mageninhalt hat zuerst G. Kelling[1]) aufmerksam gemacht. Als Quelle des Rhodans im Magen betrachtet er aber irrthümlich den verschluckten Speichel.

Ueber die Entstehung der Sulfocyansäure im Thierkörper haben uns zwei kürzlich im Laboratorium von Hofmeister in Prag ausgeführte Untersuchungen von S. Lang und W. Pascheles interessante Aufklärung gebracht. Lang[2]) fand, dass die Nitrile der Fettreihe mit Einschluss der Blausäure im thierischen Organismus in Rhodanverbindungen übergeführt und als solche mit dem Harne ausgeschieden werden, und Pascheles[3]) zeigte, dass es Eiweissstoffe sind, resp. der leicht abspaltbare Schwefel derselben, welche bei Körpertemperatur und schwach alkalischer Reaction Cyanalkali leicht in Rhodanalkali überführen. Anlässlich einer noch nicht publicirten Untersuchung über den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe haben wir gefunden, dass im Thierkörper die grösste Ammoniakmenge in der Magenschleimhaut enthalten ist. Auf Grund von Thatsachen, auf die ich hier nicht näher eingehen will, sind wir zu der Annahme berechtigt, dass in den Organen, die die grösste Ammoniakmenge enthalten, auch der intensivste Eiweisszerfall stattfindet. Nun wissen wir, dass durch Hydrolyse aus den Eiweissstoffen reichlich Amidosäuren der Fettreihe entstehen, welche bei der Oxydation in die um einen Kohlenstoff ärmeren Nitrile übergehen, die dann durch den Schwefel des Eiweisses, unter Abspaltung des mit der $C \equiv N$-Gruppe verbundenen Alkyls, in Rhodan übergeführt werden. Mit Ausnahme des Acetonitrils sind die Homologen der Blausäure heftige Gifte. Die Umwandlung der Nitrile in die relativ viel weniger giftige Sulfocyansäure würde also den Zweck einer Entgiftung haben. Warum aber die Sulfocyansäure gerade in den Mundspeichel und Magensaft übergeht, dafür bedarf es noch einer Erklärung. Wie wir[4]) gezeigt haben, kommt der Magenschleimhaut eine bestimmte Selectionsfähigkeit zu. Aus eingeführtem Bromnatrium bildet sie reichlich Bromwasserstoff, so dass der Magensaft bis 0.5 Proc. freie Bromwasserstoffsäure enthalten kann. Aus Jodnatrium wird viel weniger Jodwasserstoff gebildet. In unseren Versuchen enthielt der Magensaft höchstens 0.03 Proc. JH. Phosphorsäure, Schwefelsäure, Salicylsäure gehen gar nicht in den Magensaft über, selbst wenn das Blut und die Organe damit überladen werden. Wenn daher die Sulfocyansäure auch in noch so geringen Mengen im Magensafte sich findet — ihre Menge beträgt etwa den tausendsten Theil der freien Salzsäure im Safte —, so spricht

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chem. **18**, 397.
[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **34**, 247.
[3]) Ebenda **34**, 281.
[4]) Ebenda **34**, 320 u. 336. — Dieser Band S. 477 u. 490.

schon ihr Vorkommen dafür, dass ihr eine bestimmte functionelle Bedeutung bei der Magenverdauung zukommt, und es dürfte sich empfehlen, bei Versuchen über Magenverdauung den Einfluss der Sulfocyansäure auf den Verlauf derselben zu berücksichtigen.

Petersburg, im Mai 1895.

Ueber die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten und Geweben

von

M. Nencki und **J. Zaleski.**

Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **36**, 385. — Arch. des sciences biolog. **4**, 253. — Darüber hat Prof. Nencki einen Vortrag in der Versammlung der russ. Aerzte in Petersburg gehalten.

Bekanntlich beruht das bis jetzt fast ausschliesslich bei physiologisch-chemischen Untersuchungen benutzte Verfahren der Ammoniakbestimmung nach Schlösing auf dem Principe, dass eine wässerige, ammoniakhaltige Lösung an der Luft ihr Ammoniak nach einiger Zeit bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten lässt und dass in einem abgeschlossenen, Ammoniak enthaltenden Raume verdünnte Schwefelsäure sämmtliches Ammoniak absorbirt. Die Brauchbarkeit dieser Methode, um im Harne Ammoniak zu bestimmen, ist von Neubauer[1]) erprobt worden; und thatsächlich giebt dieses Verfahren im eiweissfreien Harne befriedigende Resultate. Ein Uebelstand dieser Methode ist die lange Dauer, denn erst nach vier- bis fünftägigem Stehen kann man annehmen, dass alles Ammoniak entwichen ist. Sie ist aber ganz unbrauchbar in Fällen, wo es sich um die Bestimmung von Ammoniak in thierischen Geweben, im Blute oder anderen eiweisshaltigen Flüssigkeiten handelt. In Fortsetzung der vor vier Jahren gemeinschaftlich mit Pawlow, Hahn und Massen[2]) ausgeführten Untersuchung haben wir uns vorgenommen, den Carbaminsäure- resp. Ammoniakgehalt in den einzelnen Organen und den verschiedenen Blutgefässbezirken zu bestimmen. Die ersten Versuche, Ammoniak nach Schlösing im Blute zu bestimmen, haben uns von der Unbrauchbarkeit dieses Verfahrens überzeugt. Wie wir später zeigen werden, enthalten 100 g arteriellen Blutes 0.5 bis 2 mg NH_3. Nach Schlösing'scher Methode, bei Anwendung von 20 bis 40 ccm Blut und 10 bis 20 ccm Kalkmilch erhielten wir in mehreren Versuchen, wobei die Proben vier bis acht Tage gestanden sind, 13 bis 38 mg NH_3 für 100 g Blut. Uebrigens haben sich schon früher Salkowski[3]) und Salomon[4]) über-

[1]) Neubauer und Vogel, Analyse des Harns (1890), S. 458.

[2]) Die Eck'sche Fistel zwischen der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen für den Organismus. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **32**, 161. — Dieser Band S. 290.

[3]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. **18**, 689.

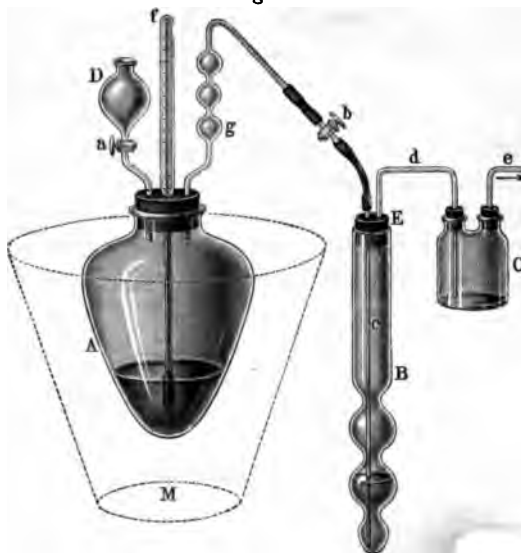
[4]) Virch. Arch. **97**, 149.

zeugt, „dass unter der Einwirkung der Kalkmilch uncontrolirbare Zersetzungen des Eiweisses erfolgen, die auch, wenn sie nichts mit der Fäulniss zu thun haben, jedenfalls die Ammoniakbestimmungen unbrauchbar machen". Gelegentlich der Untersuchungen über die physiologische Oxydation, die der eine von uns gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) ausgeführt hat, wurde constatirt, dass Eiweissstoffe, selbst in sehr verdünnter, alkalischer Lösung, an der Luft Sauerstoff absorbiren und dabei in wechselnden Mengen Ammoniak entwickeln. Dies ist wohl der Grund, weshalb die Schlösing'sche Methode für eiweisshaltige Flüssigkeiten nicht anwendbar ist.

Mit Rücksicht hierauf hat Salkowski[2]) vorgeschlagen, aus dem Blute, resp. den Organauszügen sämmtliche Eiweissstoffe durch pulveriges Kochsalz und ein Gemisch von gesättigter Kochsalzlösung und Essigsäure auszufällen. Wie jedoch schon Salomon[3]) angiebt und wir es bestätigen können, gelingt es nicht jedesmal, nach diesem Verfahren Eiweiss vollkommen zu entfernen; andererseits, bei der ungemein langsamen Filtration konnte Salomon nur äusserst geringe Mengen Blut, resp. Organauszüge zur Ammoniakbestimmung verwenden, und thatsächlich sind die von Salomon für das Blut erhaltenen Zahlen, wie weiter unten gezeigt werden soll, zu hoch ausgefallen.

In den Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft hat Wurster[4]) ein Verfahren vorgeschlagen, Ammoniak durch Destillation im Vacuum zu bestimmen, und daselbst auch den von ihm benutzten Apparat abgebildet. Auf gleichem Principe fussend, haben wir einen einfacheren Apparat construirt und durch eine Reihe von Controlversuchen ermittelt, unter welchen Bedingungen damit der Ammoniakgehalt im Harne, in den thierischen Geweben und selbst in solchen Flüssigkeiten, die nur minimale Mengen Ammoniak enthalten, wie z. B. arterielles Blut oder die Lymphe, bestimmt werden kann.

Fig. 20.

Der Apparat (siehe nebenstehende Figur) besteht aus einem starkwandigen Glasrecipienten *A* von $1^1/_2$ bis 2 Liter Inhalt. Die Form des Recipienten, unten spitz zulaufend, nach oben sich stark erweiternd, hat den Zweck, das Ueberlaufen beim Kochen des Inhalts zu v
Das Gefäss *A* ist in dem metallenen Wasserbade *M* bis an den Hals mittel

[1]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. **26**, 1 f. 1882. — Nencki's Opera omnia **1**, 643.

[2]) l. c. und Maly's Jahresber. **10**, 16.

[3]) l. c.

[4]) Ber. **22**, 1903.

passenden Ringes befestigt. In den Recipienten *A* werden 50 bis 100 g klein zerhackten Gewebes resp. Blutes gebracht. Der weite Hals desselben ist mit einem dreifach durchbohrten Kautschukpfropfen geschlossen. Durch die eine Bohrung geht das Ende des Scheidetrichters *D*, durch die zweite das Thermometer *f*, dessen Kugel bis nahe auf den Boden des Gefässes reicht, durch die dritte das dreikugelige Ableitungsrohr *g*, das mittelst dickwandigen Kautschukschlauches mit dem Hahne *b* verbunden ist. Das dreikugelige Gefäss *B* enthält eine genau abgemessene Menge von Normal-, resp. $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure und dient zum Auffangen des entweichenden Ammoniaks. Der Kautschukpfropfen *E* ist doppelt durchbohrt. Durch die eine Bohrung geht das Zuleitungsröhrchen *c*, das mittelst dickwandigem Kautschukrohr mit dem Hahne *b* verbunden ist; durch die zweite Oeffnung geht das Rohr *d*, dessen zweites Ende bis zum Boden der Woulf'schen Flasche *C* reicht. Die Flasche *C* ist noch mit einer zweiten Woulf'schen Flasche verbunden, welche letztere direct mit der Wasserstrahlpumpe verbunden wird. Die zweite Woulf'sche Flasche hat nur den Zweck, bei unvorhergesehenem Absperren des Wassers das Zurücksteigen in die Flasche *C*, resp. das Gefäss *B* zu verhüten.

Bei der Ausführung der Bestimmung verfährt man wie folgt: Nachdem in das Gefäss *A* das klein zerhackte Organ, Blut oder Lymphe (50 bis 100 g), Harn (20 bis 30 ccm) hineingebracht sind, werden in das Gefäss *B* bei Blut und den meisten Organen 10 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure, bei Magenschleimhaut, Darmschleimhaut, Magen- und Darminhalt 20 bis 30 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure, bei Harn 10 ccm Normalschwefelsäure genau abpipettirt. Hierauf werden die Gefässe *A*, resp. *B* und *C* mit den entsprechenden Korken verschlossen und durch Oeffnen der Wasserstrahlpumpe bei geschlossenen Hähnen *a* und *b* zunächst die Gefässe *C* und *B* evacuirt, sodann durch vorsichtiges Oeffnen des Hahnes *b* das Gefäss *A* ebenfalls luftleer gemacht. Das langsame Evacuiren ist namentlich dann zu beachten, wenn das Gewebe, wie z. B. Leber, Pankreas oder Blut, schon als solche alkalisch reagiren. Wenn durch das Röhrchen *c* keine Gasblasen mehr entweichen, wird der Hahn *b* zugemacht, die Kugel *D* des Scheidetrichters mit Kalkmilch, resp. Kalkwasser gefüllt und durch vorsichtiges Oeffnen des Hahnes *a* 50 bis 100 ccm der Kalkmilch in das Gefäss *A* hineingelassen. Bei einigermaassen vorsichtigem Oeffnen des Hahnes *a* ist der Eintritt der Luft in *A* leicht zu vermeiden.

Jetzt wird *a* geschlossen und der Hahn *b* langsam geöffnet, wobei zu beachten ist, dass die Gasblasen durch *c* nicht zu rasch entweichen. Ist der Hahn *b* ganz offen und kommen keine Gasblasen mehr, so beginnt man mit dem Erwärmen des Wasserbades *M*, in welches *A* eingetaucht ist. Während aller dieser Manipulationen ist zu beachten, ob der Apparat luftdicht schliesst, und eventuell die losen Stellen mit warmer Mastica zu schliessen. Ungefähr im Verlaufe einer Stunde steigt die Temperatur von 18 auf 30°. Bei 30 bis 32° geräth der Inhalt von *A* in lebhaftes Sieden unter starker Gasentwickelung. Dieses Sieden wird während drei Stunden unterhalten, wobei man die Temperatur allmählich bis auf 35° steigen lässt. Damit ist die Austreibung des Ammoniaks beendet. Zunächst wird der Hahn der Wasserstrahlpumpe, dann der Hahn *b* geschlossen und durch Oeffnen von *a* Luft in *A* hineingelassen, schliesslich durch langsames Oeffnen von *b* das ganze System mit

Luft gefüllt. Hierbei ist namentlich zu beachten, dass durch plötzliches Eindringen von Luft in *B* nicht zu viel Flüssigkeit in die Woulf'sche Flasche *C* herüber geschleudert wird. Jetzt wird der Kork *E* geöffnet, die Säure aus *B* und eventuell aus *C* in eine Schale ausgegossen, die Gefässe, sowie die Zuleitungsröhrchen sorgfältig nachgespült und die Säure mit $^1/_{40}$- resp. $^1/_4$-Normalnatronlauge unter Benutzung von Methylorange als Indicator zurücktitrirt.

Bei Beobachtung einiger Vorsicht ist die Operation sehr einfach, namentlich bei Bestimmungen im Harne und in den Geweben. Blut dagegen schäumt sehr stark, und es bedarf eines fortdauernden Beobachtens, damit während des Erwärmens der Schaum nicht über die erste Kugel des Röhrchens *g* steigt. Infolge dessen muss die Temperatur des Blutes ganz allmählich bis auf 35° hinaufgetrieben werden, und die Bestimmung dauert fünf bis sechs Stunden.

Um nun zu sehen, wie gross die Fehlergrenzen bei sorgfältigem Ausführen der Bestimmung sind, wurden folgende Parallelversuche ausgeführt.

Nr. 1. In 100 g Hundemuskel gefunden:
a) 5.1 mg
b) 4.7 mg
im Mittel 4.9 mg, mittlere Fehler = 4 Proc.

Nr. 2. In 100 g Hundemuskel gefunden:
a) 11.0 mg NH_3
b) 11.7 mg „
Im Mittel 11.35 mg, mittlere Fehler = 3 Proc.

Nr. 3. In 100 g arteriellem Hundeblut gefunden:
a) 2.8 mg NH_3
b) 2.6 mg „
im Mittel 2.7 mg, mittlere Fehler = 4 Proc.

Nr. 4. In 100 g arteriellem Hundeblut gefunden:
a) 2.8 mg NH_3
b) 2.6 mg „
im Mittel 2.7 mg, mittlere Fehler = 4 Proc.

Nr. 5. In 100 g arteriellem Hundeblut gefunden:
a) 1.4 mg NH_3
b) 1.4 mg „
im Mittel 1.4 mg, mittlere Fehler = 0.

Nr. 6. In 100 g Hundeblut, das schon mehrere Tage gestanden:
a) 6.0 mg NH_3
b) 6.9 mg „
im Mittel 6.45 mg, mittlere Fehler = 7 Proc.

Nr. 7. In 100 g Hundeharn gefunden:
a) 140 mg NH_3
b) 148.8 mg „
im Mittel 144.4 mg, mittlere Fehler = 3 Proc.

Demnach beträgt der mittlere Fehler im Durchschnitt 3.6 Proc., was mit Rücksicht auf die sehr geringe Menge Ammoniak, wie sie z. B. im Blute enthalten ist, als hinreichend genügend angesehen werden kann. — Diese Zahlen werden jedoch nur erhalten, wenn nicht weniger als 50 bis 100 g des Blutes zur Bestimmung genommen werden.

Je geringer die angewendete Blutmenge, mit um so grösseren Coëfficienten werden begreiflicher Weise alle die unvermeidlichen Fehler, die man beim Auswaschen der Gefässe, Zurücktitriren der Säure u. s. w. begeht, multiplicirt. So wurde gefunden in dem gleichen Blute und unter den gleichen Bedingungen:

1. Bei Anwendung von 49 g Blut 1.0 mg NH_3 in 100 g Blut
2. „ „ „ 107 g „ 0.9 mg „ „ 100 g „
3. „ „ „ 17 g „ 2.2 mg „ „ 100 g „

Mehr als 100 g Blut haben wir meistens für unseren Apparat wegen des starken Schäumens nicht genommen.

Bei der Destillation im Vacuum entweicht das Ammoniak hauptsächlich während des Siedens der Flüssigkeit zwischen 31 bis 34°. Wir haben dies auf die Weise ermittelt, dass in unserem Apparate der einfache Hahn *b* durch einen Dreiweghahn ersetzt wurde, wodurch zwei Säuregefässe *B* und zwei Woulf'sche Flaschen *C* zur Aufnahme des entweichenden Ammoniaks eingeschaltet werden konnten. Das aus *A* entweichende Ammoniak wurde in bestimmten Zeitintervallen durch Stellen des Dreiweghahnes entweder in den einen Säurerecipienten *B* resp. die Woulf'sche Flasche *C* oder in den zweiten *B'* resp. die Woulf'sche Flasche *C'* geleitet. Während der Zeit wurde die Säure aus dem ausgeschalteten Gefässe *B*, resp. *C* zurücktitrirt und die Gefässe mit frischer Säure gefüllt.

In das Gefäss *A* wurden 0.6376 g Salmiak, entsprechend 0.2026 g NH_3 in wässeriger Lösung gegeben. Nachdem der Apparat in Gang gesetzt war, wurde Kalkmilch zugesetzt und das entweichende Ammoniak in einzelnen Portionen aufgefangen.

Nach Zusatz der Kalkmilch. Temp. 19°. NH_3 = 0.0 Proc.
Bis zu Temp. 26° NH_3 4.3 mg = 2.1 Proc.
Bei Temp. 31° (Flüssigkeit beginnt zu sieden) 49.1 mg oder 24.2 Proc.

Von nun ab wird die Temperatur bei 31 bis 34° gelassen und jede halbe Stunde das entweichende Ammoniak bestimmt. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

46.6 mg = 23.0 Proc.
45.2 „ = 22.3 „
27.4 „ = 13.5 „
19.7 „ = 9.7 „
9.5 „ = 4.7 „

Im Ganzen wurden statt der zugesetzten 0.2026 g 0.2018 g NH_3 erhalten.

Aus wässeriger Lösung entweicht also alles Ammoniak schon zwischen 31 bis 34°. Aehnliche Resultate erhielten wir mit Ammoniak, das zu Blut, Serum oder Harn zugesetzt wurde; der mittlere Fehler betrug jedoch etwa 5 Proc. In den Lösungsflüssigkeiten (Blut, Harn) wurde vorher das Ammoniak bestimmt und zu dem in Form von Salmiak zugesetzten hinzugezählt. Folgende Zahlen haben wir erhalten:

1. Hundeblut + Salmiak. NH_3 berechnet 36.0 mg, gefunden 37.9 mg. Mittlerer Fehler + 5 Proc.
2. Pferdeserum + Salmiak. NH_3 berechnet 28.4 mg, gefunden 27.2 mg. Mittlerer Fehler — 4 Proc.
3. Hundeharn + Salmiak. NH_3 berechnet 97.9 mg, gefunden 92.3 mg. Mittlerer Fehler — 5.7 Proc.

Carbaminsaures Ammoniak, dem Blute zugesetzt, giebt im Vacuum mit Kalkmilch bis 35° destillirt allen Stickstoff als Ammoniak ab, entsprechend der Gleichung: $NH_2CO_2NH_4 = (NH_3)_2 + CO_2$.

Wegen der Flüchtigkeit des Salzes wurde die Probe in ein dünnwandiges Glasröhrchen eingeschmolzen, gewogen und in das im Gefäss *A* befindliche Blut, dessen Ammoniakgehalt vorher bestimmt wurde, hineingeworfen. Die aus Carbaminsäure + Blut berechnete Ammoniakmenge war = 29.0 mg. Gefunden wurden 27.6 mg, also mit einem Fehler von — 5 Proc.

Harnstoff zum Blute oder den Geweben zugesetzt, gab im Vacuum destillirt, wobei die Temperatur 35° erreichte, kein Ammoniak. So fanden wir z. B. in 100 g arteriellen Blutes 1.8 mg NH_3. Dasselbe Blut, mit 0.5 g Harnstoff destillirt, gab 1.5 mg NH_3. 100 g frischer Hundemuskel enthielten 12.4 mg NH_3. Zu 94, resp. 81 g derselben Muskel wurde je 1 g Harnstoff zugesetzt und darin das Ammoniak bestimmt; gefunden in der einen Portion 12.0 mg und in der anderen 11.4 mg. Im Mittel 11.7 mg für 100 g.

Als jedoch Muskel mit Harnstoff destillirt und die Temperatur bis auf 38° hinaufgetrieben wurde, fand eine erhebliche Zunahme von Ammoniak statt. So wurden gefunden in 100 g Hundemuskel 13.4 mg NH_3. Eine andere Portion der gleichen Muskel, mit 1 g Harnstoff versetzt und bis auf 38° erhitzt, gab 19.5 mg NH_3 in 100 g.

Kreatin über 35° erhitzt ergab ebenfalls eine geringe Zersetzung, resp. Vermehrung des Ammoniaks. Arterielles Hundeblut enthielt 1.0 mg NH_3 in 100 g. Zu 48 ccm desselben Blutes wurden 0.2248 g Kreatin, frei von Krystallwasser, zugesetzt und mit Kalkmilch destillirt, wobei die Temperatur auf 37° hinaufgetrieben wurde. Jetzt ergab die Bestimmung 3.9 mg NH_3 in 100 g Blut.

Auffallender Weise war eine solche Zersetzung des Harnstoffs bei der Destillation im Harne nicht zu bemerken. 25 ccm Hundeharn mit Kalkmilch bis 35° destillirt, gaben 33.7 mg NH_3. Zu anderen 25 ccm des gleichen Harnes wurden 3 g Harnstoff zugesetzt und die Flüssigkeit mit Kalkmilch bis auf 38° erwärmt. Gefunden 31.8 mg NH_3.

Nicht allein die Temperatur über 35°, sondern auch ein andauerndes Erhitzen mit viel überschüssigem Kalk haben eine geringe Zersetzung des Blutes mit Bildung von NH_3 zur Folge. So ergab Blut nach halbstündigem Sieden bei 32.5° 1.6 mg NH_3 in 100 g.

Nach 2 stündigem Sieden bei 35° 3.6 mg pro 100 g
„ 3 „ „ „ 37.5° 4.6 mg pro 100 g
„ 5 „ „ „ 40° 5.7 mg pro 100 g.

Offenbar findet also hier eine theilweise Abspaltung von NH_3 aus den Bestandtheilen des Blutes statt. Dies ist jedoch nur dann der Fall, wenn auf 50 100 g concentrirte Kalkmilch angewendet werden.

Wird statt Kalkmilch frisch bereitetes, filtrirtes Kalkwasser angewend findet selbst nach längerem Erhitzen bei 40° keine Neubildung von Ammonial

So ergaben 60 g Blut, mit 100 ccm filtrirten Kalkwassers destillirt, bi Flüssigkeit 35° erreicht hatte, 1.8 mg NH_3 in 100 ccm. Dasselbe Blut und ce. paribus wurde zwei Stunden lang bei 40° destillirt und ergab 1.7 mg

Die Menge des Kalkwassers war jedenfalls mehr als hinreichend, wie aus folgendem Versuche hervorgeht:

50 g arterielles Blut, mit 100 ccm filtrirten Kalkwassers destillirt, gaben 1.7 mg NH_3 in 100 g Blut. Dasselbe Blut ceteris paribus, jedoch nur mit 40 ccm filtrirten Kalkwassers destillirt, gaben 1.6 mg NH_3 in 100 g.

Fassen wir nun die Resultate unserer Bestimmungen zusammen, so geht aus ihnen hervor, dass die Bestimmung des Ammoniaks im Harne, Blute und den Geweben durch Destillation mit Kalk im Vacuum mit hinreichender Genauigkeit ausgeführt werden kann, jedoch unter Beachtung folgender Regel:

1. Die Temperatur der siedenden Flüssigkeit darf nicht 35° übersteigen. Diese Temperatur ist hinreichend, um aus den thierischen Flüssigkeiten und Geweben alles Ammoniak zu verflüchtigen.

2. Für Blut empfiehlt es sich, statt Kalkmilch bei 10° bis 15° kalt bereitetes, filtrirtes Kalkwasser zu verwenden. Solches Kalkwasser enthält durchschnittlich in 100 ccm 130 mg CaO und sind für 50 ccm Blut 100 ccm des Kalkwassers vollkommen genügend. Für Harn und Gewebe ist Kalkmilch vom spec. Gewicht 1.005 bis 1.007 zu verwenden. Eine Kalkmilch vom spec. Gewicht 1.007 enthält in 100 ccm 0.75 g CaO.

3. Bei dem geringen Gehalte des Blutes und der meisten Gewebe an Ammoniak ist es zweckmässig, davon nicht unter 50 g anzuwenden. Vom Harn genügen 20 bis 30 ccm.

4. Zur Absorption von Ammoniak genügen für Blut und die meisten Gewebe 10 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure, welche mit $^1/_{40}$-Normalnatronlauge zurücktitrirt werden. 1 ccm dieser Lauge entspricht 0.425 mg NH_3, so dass der beim Titriren begangene Fehler je nach der Uebung des Experimentators etwa 0.1 mg betragen kann. Nur für ammoniakreiche Gewebe, wie Magen- und Darmschleimhaut, ist es nöthig, 20 bis 30 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure anzuwenden. Für 25 ccm Hundeharn verwendet man in der Regel 10 ccm Normalschwefelsäure, welche mit $^1/_4$-Normalnatronlauge zurücktitrirt werden.

Eine selbstverständliche Bedingung ist, dass die thierischen Flüssigkeiten, resp. Organe in frischem Zustande verarbeitet werden. Dies gilt besonders von den leicht zersetzbaren Geweben, wie Magen- oder Darmschleimhaut, Leber, Pankreas u. s. w. Selbst das wenig zersetzbare Blut, bei 0° aufbewahrt, verändert seinen Ammoniakgehalt nach mehreren Tagen erheblich. In einem Versuche erhielten wir aus 100 g frischem, defibrinirtem, arteriellem Blute 1.0 mg NH_3; nach 24 Stunden 0.9 mg NH_3; nach drei Tagen 2.2 mg; nach sechs Tagen 6.4 mg NH_3.

Vor mehreren Jahren hat Bohland[1]) die Schlösing'sche Methode in der Weise modificirt, dass auch er vor dem Kalkzusatz die Luft aus der Glocke entfernt und nach 48 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur die Säure zurücktitrirt. Für alkalisch reagirende thierische Flüssigkeiten und Gewebe ist dieses Verfahren nicht ohne weiteres anwendbar, da schon während des Evacuirens ein geringer Theil des Ammoniaks mit dem Luftstrom entweicht und von der Säure nicht zurückgehalten

[1]) Pflüger's Arch. **43**, 32.

wird. So erhielten wir nach unserem Verfahren in 100 g Pfortaderblutes 5.2 mg NH_3, nach dem Verfahren von Bohland im gleichen Blute nur 2.5 mg. In dem Lebervenenblute vom gleichen Hunde nach unserem Verfahren 1.9 mg in 100, nach dem Verfahren von Bohland 1.2 mg. Alkalische Flüssigkeiten müssten demnach bei Anwendung des Bohland'schen Verfahrens vor dem Evacuiren schwach sauer gemacht werden. Ein Uebelstand der Bohland'schen Methode ist der, dass in Folge des Vacuums sich auf die Innenwand der Glocke noch mehr als wie bei dem ursprünglichen Schlösing'schen Verfahren Wasser niederschlägt. Im Harne hat unsere Methode sowohl mit der von Schlösing als mit der von Bohland befriedigende Uebereinstimmung gegeben. In 100 ccm Hundeharn fanden wir nach Bohland 54 mg NH_3, nach unserem Verfahren 51 mg NH_3. In einem anderen Hundeharne für 100 ccm 29.6 mg NH_3 nach Schlösing und 30.0 mg nach unserem Verfahren.

Da wir in unseren später zu beschreibenden Versuchen Ammoniak gleichzeitig in verschiedenen Organen zu bestimmen hatten, so wurden mit einer Wasserstrahlpumpe zwei Destillationsgefässe verbunden in der Art, dass die zwei Woulf'schen Flaschen *C* in eine gemeinschaftliche Flasche mündeten, welche mit der Pumpe verbunden war. Mit drei Wasserstrahlpumpen konnten so bequem acht bis zehn Bestimmungen in einem Tage ausgeführt werden.

Ueber den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe und die Harnstoffbildung bei Säugethieren

von

M. Nencki, J. Pawlow und **J. Zaleski.**

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **37**, 26. — Arch. des sciences biol. **4**, 197.

Die nachfolgenden Untersuchungen bilden eine Vervollständigung und bis zu einem gewissen Grade einen Abschluss der früher von M. Hahn, O. Massen, M. Nencki und J. Pawlow publicirten Untersuchung über die Eck'sche Fistel zwischen der unteren Hohlvene und der Pfortader und ihre Folgen für den Organismus [1]). Wir zeigten dort, dass nach erfolgreicher Anlegung der Venenfistel bei den Hunden frühestens nach 10 Tagen, meistens erst nach einigen Wochen sich charakteristische Krankheitssymptome einstellten, wobei wir folgende Stoffwechselveränderungen constatirten:

1. Eine Verminderung der Harnstoffausscheidung bei Hunden, denen die Venenfistel angelegt und ausserdem die Leberarterie unterbunden war.

2. Eine vermehrte Ammoniakausscheidung im Harn und Unvermögen, aus der in den Magen eingeführten Carbaminsäure Harnstoff zu bilden.

---

[1]) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **32**, 161. — Dieser Band S. 290.

3. Die willkürliche Hervorrufung der Vergiftungssymptome durch reichliche Zufuhr stickstoffhaltiger Nahrung oder Ammoniaksalze.

4. Eine Vermehrung der Harnsäure im Harn.

Gegen die von uns gegebene Erklärung der beobachteten Vergiftungserscheinungen, resp. der Stoffwechseländerung sind namentlich aus dem Laboratorium von Hofmeister in Prag Einwände erhoben worden, auf welche näher einzutreten wir erst dann für zweckmässig erachteten, wenn eine Vorfrage, nämlich die über den Gehalt des Blutes und der Organe an Ammoniak in normalem Zustande und nach Anlegung der Venenfistel, erledigt wurde. Zur Zeit, wo wir unsere Untersuchungen anstellten, war eine zuverlässige Methode der Ammoniakbestimmung im Blute und den Geweben erst zu erproben. Nachdem wir nun in der vorangehenden Mittheilung eine Methode beschrieben haben, mittelst welcher der Ammoniakgehalt des Blutes und der Gewebe mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden kann, haben wir durch eine Reihe von Bestimmungen diese Lücke in unserer ersten Arbeit ausgefüllt. Die nachfolgenden Zeilen werden zeigen, in wiefern unsere erste Deutung der Vergiftungserscheinungen und der Stoffwechselveränderung berechtigt war.

Bevor wir zur Mittheilung der einzelnen Bestimmungen übergehen, ist es zweckmässig, an die von uns ermittelten toxischen Dosen der Carbaminsäure zu erinnern. Wir schicken voraus, dass nach Marfori[1]) die in einer Stunde für ein Kilo Körpergewicht noch vertragene Ammoniakdosis wie folgt ist:

	als kohlensaures Ammoniak,	als milchsaures,	als weinsaures
Kaninchen	20.68 mg	32.8 mg	30.0 mg
Hunde	29.16 mg	62.5 bis 102 mg	61.1 bis 84.7 mg.

Die ersten Vergiftungssymptome — Somnolenz und Ataxie — traten in unseren Versuchen nach intravenöser Injection von 0.25 g carbaminsaurem Natron = 0.05 g Ammoniak auf 1 kg Körpergewicht auf. Bei Dosen von 0.3 g carbaminsauren Natrons = 0.06 g Ammoniak pro Kilogramm stellten sich die charakteristischen Symptome ein, wie uncoordinirte Bewegungen, Blindheit und Verlust der Schmerzempfindung. Nach Dosen von 0.6 g = 0.12 g NH_3 pro Kilogramm traten Krämpfe auf, und erst nach noch grösseren Dosen beobachteten wir Tetanus, gefolgt von Opisthotonus und Respirationsstillstand. Sollten z. B. bei einem Hunde von 10 kg Körpergewicht die Muskeln 0.02 Proc. Ammoniak enthalten, so würden schon die Muskeln allein — ihr Gewicht = 40 Proc. des Körpergewichtes angenommen — 0.8 g Ammoniak, d. h. bereits eine giftige Dose enthalten. Wir werden weiter unten sehen, dass bei reichlicher Fleischnahrung der Ammoniakgehalt des Hundemuskels noch grösser als der oben angenommene sein kann.

Um Wiederholungen zu vermeiden, schicken wir voraus, dass in den nachfolgenden Versuchen die Thiere stets durch Verbluten getödtet wurden. Die erhaltenen Zahlen beziehen sich also auf blutleere Organe. Muskeln und drüsige Organe wurden in der Fleischhackmaschine, die vorher stets sorgfältig gereinigt wurde, zerkleinert. Meistens 1 bis 2 Stunden nach der Verblutung wurden die Or-

[1]) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 78.

gane, resp. das Blut analysirt. Nur in den Fällen, wo von einem Thiere mehr als sechs Bestimmungen ausgeführt werden mussten, wurde das unzerkleinerte Gewebe auf Eis aufbewahrt und am nächsten Tage, aber nicht später als nach 24 Stunden zur Bestimmung verwendet. Leicht zersetzbare Objecte, wie z. B. Magen- und Darminhalt, Magen- und Darmschleimhaut, Leber und Pankreas, wurden stets gleich in Arbeit genommen und nur Muskeln und Blut bis zum nächsten Tage aufbewahrt. Das Blut wurde jedesmal während des Aderlasses defibrinirt, so dass die erhaltenen Zahlen auf defibrinirtes Blut sich beziehen. Aus der Lebervene, der Pfortader und ihren Aesten wurde nur so viel Blut entnommen, als gerade für die Bestimmung nothwendig war.

1. Versuch. Ein gesunder Hund, 19 kg schwer, mit Fleisch und Milch ernährt, erhält 3 Stunden vor der Operation 800 g Fleisch und 600 ccm Milch. Durch Verbluten aus der Arteria femoralis getödtet. Die Ammoniakbestimmung im Blute und den einzelnen Organen ergab folgende Zahlen:

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Leber	93	23.0	25.7
Milz	27	3.52	13.0
Muskel	128	30.49	23.8
Muskel	119	26.71	22.4
Blut (aus Art. fem.)	105	1.89	1.8
Dasselbe Blut mit 0.5 g Harnstoff	100	1.5	1.5

2. Versuch. Gesunder, alter Hund, 17 kg schwer, mit Fleisch und Milch ernährt, erhält $4^1/_2$ Stunden vor der Operation 800 g Fleisch und 600 g Milch. Der Hund wird mit Curare vergiftet und künstliche Athmung eingeleitet. Hierauf werden aus der Pfortader 170 ccm Blut entnommen und dann das Thier durch Verblutung aus der Carotis getödtet.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
Leber	62	20.70	33.4	Im Magen noch unverdautes Fleisch. Das Pfortaderblut wurde entnommen unterhalb der Vena pankreatica und gastrica. Zur Absorption des Ammoniaks für Leber und Muskel verwendet 20 ccm, für Blut 10 ccm der $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure.
Muskel	81	28.22	34.7	
Blut aus der Carotis	112	1.55	1.4	
Blut aus der Pfortader	145	12.20	8.4	

3. Versuch. Gesunder Hund, 18 kg schwer. Ernährt wie die vorigen, erhält 7 Stunden vor der Operation 800 g Fleisch. Operation wie in vorhergehendem Versuch. Es wird zuerst das Blut aus der Pfortader, hierauf aus der Vena cava inferior entnommen und das Thier durch Verbluten aus der Carotis getödtet.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
Blut aus V. cava inf.	[illegible]	1.30	1.1	Auch hier wurde das Blut unterhalb der Einmündung der V. pankreatica und gastrica entnommen.
Blut aus V. portae . .	[illegible]	7.30	5.6	
Blut aus der Carotis .	[illegible]	2.24	1.3	

4. Versuch. Da in den beiden vorangehenden Versuchen das Pfortaderblut bedeutend mehr Ammoniak, als das des grossen Kreislaufs enthielt, so wünschten wir den Gehalt an Ammoniak in den Aesten der Pfortader zu ermitteln. Zu dem Zwecke wurde ein junger, grosser Hund, 35 kg schwer, der mit Fleisch gefüttert war, verwendet. 7 Stunden nach der letzten Mahlzeit, aus 1 kg Fleisch bestehend, Operation wie in vorhergehenden Versuchen. Das Blut wurde zuerst aus der V. pankreatico-duodenalis, hierauf aus einer Mesenterialvene, dann aus der V. cava entnommen. Verblutung aus der Carotis.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
V. pankr.-duodenalis	50	6.0	12.0
V. mesenterica	55	4.8	8.7
V. cava inferior	54	1.0	1.9
Art. carotis	55	0.84	1.5

Der kolossale Unterschied in dem Ammoniakgehalt des Blutes aus den Pfortaderästen und dem des grossen Kreislaufs veranlasste uns, den Versuch noch einmal zu wiederholen.

5. Versuch. Ein gesunder, grosser Hund, 27.0 kg schwer, mit Fleisch und Hafersuppe gefüttert, erhält seine letzte Nahrung 6 Stunden vor der Operation. Da man annehmen konnte, dass der hohe Ammoniakgehalt von der Zersetzung des Speisebreies im Darme durch Bacterien, welche nachgewiesenermaassen ihre Wirkung auf Eiweiss am intensivsten im Dickdarme entwickeln, herrührt, so wurde zuerst das Blut aus einer Hämorrhoidalvene entnommen. Wie die Bestimmung zeigt, enthielt die V. pankreatica mehr als doppelt so viel Ammoniak, wie die V. haemorrhoidalis. Die Reihenfolge der Blutentnahme war folgende: V. haemorrhoidalis, mesenterica, pankreatica, cava inferior. Verblutung aus der Carotis.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
V. haemorrhoidalis	48	2.8	5.7
V. mesenterica	52	2.5	4.8
V. pankreatica	36	4.8	13.3
V. cava inferior	55	1.8	3.3

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
A. carotis	46	0.8	1.7
Leber	79	22.8	29.0
Milz	37	6.2	16.7
Gehirn	53	5.7	10.7
Muskel	73	7.8	10.7
Nieren	68	13.8	20.3

Durch den nächsten Versuch sollte nun entschieden werden, ob der hohe Ammoniakgehalt der Pfortaderäste einfach vom Speisebrei herrührt, oder auch eine Folge der chemischen Processe in den Verdauungsdrüsen während ihrer Thätigkeit ist.

6. Versuch. Ein Hund, 20.1 kg schwer, erhielt um 7 Uhr Morgens 1.3 kg frisches Fleisch, das er bis 11 Uhr ganz aufgefressen hat. Um 1 Uhr wird der Hund durch Verbluten aus der Art. femoralis getödtet. Im Magen noch 785 g unverdautes Fleisch. Reaction der Masse stark sauer. Im Dünndarm 139 g dünner, alkalisch reagirender Speisebrei.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
Darminhalt	70	29.8	42.6	Die Schleimhäute des Magens und des Darmes wurden sorgfältig abpräparirt und mit einem dünnen Wasserstrahl abgewaschen. Die Bestimmung des NH_3 in der Magenschleimhaut ist misslungen, da die vorgelegten 20 ccm der $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure zur Absorption des Ammoniaks nicht ausreichten.
Mageninhalt	75	12.3	16.4	
Schleimhaut d. Darmes	71	16.3	23.0	
Schleimhaut d. Magens	85	31.5 ?	37.1 ?	
Pankreas	36	3.2	8.8	
Leber	55	12.6	22.8	
Lunge	104	1.1	1.1	
Muskel	119	11.0	9.2	

7. Versuch. Der vorhergehende Versuch wurde wiederholt. Hund 22.3 kg schwer, 3 Tage vorher mit gekochtem Fleisch gefüttert. 5 Stunden nach der letzten Mahlzeit durch Verbluten aus der Arteria cruralis getödtet. Zum Vergleiche wurde im reinen Magensafte eines anderen oesophago- und gastrotomirten Hundes der Gehalt an NH_3 bestimmt.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
Schleimhaut d. Magens	55	29.0	52.8	Der Mageninhalt = 598 g reagirt sauer; enthält unverdautes Fleisch und auch Stroh. Darminhalt = 132 g, dünnflüssig, reagirt alkalisch. Zur NH_3-Bestimmung wurde nur Inhalt des Dünndarms mit Ausschluss des Dickdarminhalts verwendet; ebenso nur die Schleimhaut des Dünndarms. Zur Absorption des NH_3 wurden jetzt 30 ccm der $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure genommen.
Mageninhalt	77	18.7	24.3	
Schleimhaut d. Darmes	72	30.0	41.7	
Darminhalt	71	28.5	40.2	
Pankreas	32	5.1	16.0	
Magensaft d. Hundes	51	2.8	5.4	

8. Versuch. Der Versuch wird wiederholt. Ein Hund, 15.5 kg schwer, mit gekochtem Fleisch gefüttert, 4 Stunden nach der letzten Mahlzeit getödtet.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
Magenschleimhaut . .	41	17.7	43.2	Der Mageninhalt = 287 g. Reaction stark sauer; enthält unverdautes Fleisch in Stücken, kein Stroh. Der Darminhalt = 66 g, dünnflüssig, von alkalischer Reaction.
Mageninhalt	87	8.6	9.9	
Darmschleimhaut . .	68	19.7	28.9	
Darminhalt	49	11.0	22.4	
Pankreas	34	2.7	7.9	
Leber	80	16.9	21.2	
Muskel	92	17.8	19.4	

Wie man sieht, enthält die Magenschleimhaut stets bedeutend mehr NH_3 als wie der Mageninhalt, so dass etwa die Hälfte des Ammoniaks in den Magenvenen von den chemischen Umsetzungen in der Magenschleimhaut herrührt.

In dem Dünndarminhalt wurden das erste Mal 42.6 mg und in der Dünndarmschleimhaut 23.0 mg gefunden. In dem folgenden Versuche war der Ammoniakgehalt des Darminhaltes und der Darmschleimhaut ziemlich derselbe, 40.2 resp. 41.7. In der letzten Bestimmung ist die Differenz ebenfalls nicht gross, doch enthält hier die Darmschleimhaut merklich mehr NH_3.

Es war unser Wunsch, den Ammoniakgehalt des Pfortaderblutes mit dem direct aus der Leber abfliessenden Blute der Vena hepatica zu vergleichen. Ohne Zerreissung des Lebergewebes war die Einführung der Canüle in die Lebervene nicht möglich. Um das Lebervenenblut zu erhalten, wurde daher die Bauchaorta vor der Verzweigung zu den Arteriae iliacae, sodann die Venae phrenicae und die Vena cava inferior direct unter der Leber unterbunden. Das Blut aus der Pfortader, sowie aus der Vena cava inferior oberhalb des Diaphragma, welches letztere nur das Lebervenenblut enthalten konnte, wurde mit einem Troicart entnommen.

9. Versuch. Ein Hund, 19.5 kg schwer, um 7 Uhr Morgens mit 800 g Fleisch gefüttert. Um 1 Uhr Operation nach vorausgegangener Vergiftung mit Curare und eingeleiteter künstlicher Athmung. Da wir auch den Gehalt an Ammoniak in der Lymphe bestimmen wollten, so wurde zunächst der Ductus thoracicus von der Brusthöhle aufgesucht und nach Einführung der Canüle die Lymphe in einen Messcylinder gesammelt. Anfangs floss die Lymphe in raschen Tropfen, gegen Ende musste durch Kneten der Extremitäten und des Bauches das Ausfliessen unterstützt werden. Nach circa $^3/_4$ Stunden wurden 55 ccm der Lymphe gesammelt. Hierauf wurde die Bauchhöhle geöffnet und das Blut in folgender Reihenfolge entnommen: Aus der V. gastrica, pancreatica, V. portae und schliesslich in oben beschriebener Weise aus der V. hepatica.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Gastrica media	39	2.6	6.7
V. pancreatica	50	4.1	8.2
V. portae	50	2	4.0
V. hepatica	98	1.8	1.8
Lymphe	53	0.3	0.57
Leber	106	13.0	12.2
Magenschleimhaut	40	17.9	44.9

10. Versuch. Der vorherige Versuch wird wiederholt mit dem Unterschiede, dass zuerst aus der Vena portae mit dem Troicart, hierauf aus der Vena hepatica in der oben angegebenen Weise und schliesslich noch einmal aus der Pfortader das Blut entnommen wird. Hund, 54.0 kg schwer, 5 Stunden vorher mit fetter Wurst gefüttert.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
V. portae I	54	1.9	3.5	Die Bestimmung in dem Lebervenenblute wurde doppelt ausgeführt, ebenso im Harne.
V. hepatica I	51	1.0	2.0	
V. hepatica II	53	1.0	1.9	
V. portae II	68	2.6	3.9	
Harn	25 ccm	35	140.0	
Harn	25 ccm	37.2	148.8	

Obgleich in den letzten Bestimmungen die Pfortader nicht einmal doppelt so viel Ammoniak als die Lebervene enthielt, so haben wir doch mit Rücksicht darauf, dass in den früheren Bestimmungen die Pfortader vier- und fünfmal mehr Ammoniak als das Blut des grossen Kreislaufs enthielt, den Harnstoffgehalt, gleichzeitig mit dem Ammoniakgehalt des Pfortader- und des Lebervenenblutes bestimmt. Eine ausführliche Kritik der bisherigen Methoden zur quantitativen Bestimmung des Harnstoffs im Blute hat kürzlich Dr. B. Schöndorff[1]) gegeben. Beiläufig sei bemerkt, dass bei der Fällung des Harnstoffs durch salpetersaures Quecksilberoxyd nach den Angaben von Schröder schon deshalb aus einer bekannten Harnstofflösung nicht aller Harnstoff wieder gewonnen werden kann, weil der Harnstoffquecksilberniederschlag in Wasser etwas löslich ist und beim Auswaschen des Niederschlages immer etwas davon in Lösung geht. Auf Grund der Schöndorff'schen Controlversuche haben auch wir ein Volumen Blut mit zwei Volumen Phosphorwolframsäure + Salzsäure versetzt, nach 24 Stunden das Filtrat mit Kalkhydratpulver alkalisch gemacht und im Filtrat den Harnstoff durch Erhitzen mit Phosphorsäure als Ammoniak bestimmt. Von dem gefundenen Ammoniak wurde das durch Destillation im Vacuum erhaltene, präformirte Ammoniak in Abzug gebracht. Nach unserer

[1]) Pflüger's Archiv 54, 423 f. (1893).

Ansicht giebt dieses Verfahren ein wenig zu hohe Zahlen, da durch die Mischung von Phosphorwolframsäure mit Salzsäure das im Blute vorhandene Kreatin nicht gefällt wird. Da es sich aber bei uns um Vergleichszahlen handelte, so haben wir den dadurch bedingten Fehler vernachlässigt. In Anbetracht, dass das Pfortader- und das Lebervenenblut immerhin nur wenige Milligramme Ammoniak enthalten, während der Harnstoffgehalt des Hundeblutes mehr als 100 mg in 100 ccm Blut betragen kann, waren, selbst wenn die Leber das durch die Pfortader zugeführte Ammoniak, resp. Carbaminsäure vollkommen in Harnstoff umgewandelt hätte, keine grossen Differenzen zwischen dem Pfortader- und dem Lebervenenblute im Harnstoffgehalte zu erwarten. Immerhin war es uns wünschenswerth, durch directen Versuch den wahren Sachverhalt kennen zu lernen.

11. Versuch. Ein Hund, 34.2 kg schwer, erhält 5 Stunden vor dem Versuche 1 kg Fleisch. Operation und die Reihenfolge der Blutentnahme wie im vorhergehenden Versuch.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gef. NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Harnstoffgehalt in 100 g Blut in mg
Vena portae	42	1.6	3.8	110.3
Vena hepatica	46	0.2	0.5	114.2

Es wurden hier je 50 ccm Blut mit 100 ccm Phosphorwolframsäure gefällt. Die Differenz in dem gefundenen Harnstoffgehalte ist so gering, dass sie innerhalb der Fehlergrenzen liegt. Da nun bei hungernden Thieren der Harnstoffgehalt des Blutes auf die Hälfte bis ein Drittel sinkt, so wurde der Versuch noch in der Art wiederholt, dass ein Hund, der mehrere Tage hungerte, reichlich mit Fleisch gefüttert und dann während der Verdauung getödtet wurde.

12. Versuch. Ein wohlgenährter Hund, 17.2 kg schwer, bekommt 6 Tage lang keine Nahrung. Am 7. Tage, Morgens 6 Uhr, erhält er 900 g Fleisch. Um 11 Uhr Morgens Operation wie in den vorhergehenden Versuchen.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gef. NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Harnstoffgehalt in 100 g Blut in mg
V. portae	40	1.4	3.5	101.5
V. hepatica	34	0.5	1.5	105.9
Leber	59	8.1	13.7	—
Mageninhalt	63	14.1	22.4	—
Magenschleimhaut	33	10.5	31.8	—

Auch hier liegt also die Differenz in dem gefundenen Harnstoffgehalte innerhalb der Fehlergrenze, wenn auch in beiden Fällen der Harnstoffgehalt des Lebervenenblutes etwas grösser gefunden wurde.

In allen bisher mitgetheilten Versuchen wurden die Hunde vor der Verblutung reichlich mit Fleisch gefüttert. Nichts aber zeigt besser, wie sehr der Ammoniak-

resp. Carbaminsäuregehalt des Blutes und der Organe von der Nahrung abhängig ist, als der Vergleich der erhaltenen Zahlen mit denen, die beim absoluten Hungern erhalten werden.

13. Versuch. Ein grosser Hund, 45 kg schwer, erhält 4 Tage lang keine Nahrung. Am 5. Tage Entnahme des Blutes und der Organe. Der Hund wird tracheotomirt, das Rückenmark durchschnitten und die verschiedenen Blutarten in folgender Reihenfolge entnommen: Vena pancreatica, V. mesenterica, V. cava inferior, Art. carotis.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg	Bemerkungen
V. pancreatica	62	0.17	0.25	Magen und Darm ganz leer, nur mit etwas Schleim bedeckt.
V. mesenterica	51	0.63	1.2	
V. cava inferior	69	1.93	2.8	
Art. carotis	58	0.21	0.38	
Muskel	96	0.67	0.7	
Leber	83	6.05	7.3	
Pankreas	78	2.06	2.6	

14. Versuch. Ein Hund, 14.7 kg schwer, hungert nur 2 Tage und wird am 3. Tage durch Verblutung getödtet.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Magenschleimhaut	59	12.7	21.5
Darmschleimhaut	82	13.3	16.2
Pankreas	33	2.0	6.0
Muskel	84	3.9	4.6

Auch bei den Pflanzenfressern enthält die Magenschleimhaut mehr Ammoniak als der Mageninhalt. Den ersten Versuch hierüber haben wir an Kaninchen angestellt. Um die für die Bestimmung nöthige Menge der Magenschleimhaut zu gewinnen, wurden zwei grosse und gleich ernährte Thiere durch Verblutung getödtet, die Magenschleimhaut, resp. die Organe herauspräparirt, mit einander gleichmässig vermischt und zur Bestimmung verwendet.

15. Versuch.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Magenschleimhaut	13	1.1	8.5
Mageninhalt	60	1.92	3.2
Leber	67	2.8	4.2
Muskel	73	3.9	5.3
Blut aus der Carotis	50	0.7	1.4

Bei zwei mit Heu gefütterten Schafen haben wir folgende Zahlen erhalten:

16. Versuch. Schaf, 23 kg schwer, wird durch Verblutung aus der Art. carotis getödtet.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Magenschleimhaut	54	5.9	10.9
Mageninhalt	79	4.8	6.0
Darmschleimhaut	64	4.6	7.2
Darminhalt	90	13.9	15.5
Leber	50	6.9	13.9
Nieren	45	4.17	8.6
Pankreas	52	1.8	3.5
Muskel	56	3.3	5.9
Serum des Blutes	72	0.5	0.7

17. Versuch. Schaf, 21.2 kg schwer, wird mit Curare vergiftet und künstliche Athmung eingeleitet. Zunächst wird Lymphe aus dem Ductus thoracicus entnommen, hierauf das Blut aus der Pfortader, dann aus der Vena cava inferior und schliesslich das Thier durch Verbluten aus der Art. carotis getödtet. Die vier Magen und die Därme sind mit Speisebrei gefüllt. Reaction im Labmagen schwach sauer.

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Magenschleimhaut	53	6.0	11.4
Mageninhalt	120	8.4	7.0
Muskeln	106	5.4	5.1
Leber	50	5.2	10.4
Pankreas	51	2.4	4.7
Nieren	52	6.6	12.7
V. portae	97	3.2	3.3
V. cava	73	2.1	2.9
Art. carotis	77	0.9	1.1
Lymphe	65	0.3	0.45

Die Bestimmungen bei den Pflanzenfressern wurden mit unserer Unterstützung zum grossen Theil von Herrn Dr. Lundberg ausgeführt. Herr Lundberg hat ferner übernommen, den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe auch bei Fleischfressern unter verschiedenen Ernährungsbedingungen zu bestimmen. Wir erlauben uns, aus seinen Bestimmungen noch die bei einem Hunde, der 8 Tage lang nur mit Brot und Milch ernährt wurde, erhaltenen Zahlen hier mitzutheilen. Für 100 g frischer Substanz wurde erhalten NH_3 in Milligrammen: In der Magenschleimhaut 16.0; Mageninhalt 3.4; Darmschleimhaut 9.4; Darminhalt 29.0; Leber 7.6; Muskel 11.3; Gehirn 5.5; Milz 9.1; Pankreas 9.1; Nieren 12.3; im arteriellen Blute 2.7.

Bei einem Pferde, das gegen Diphtherie immunisirt wurde (das Thier war erst im Beginn der Immunisation und erhielt zum letzten Male 8 ccm des Diphtherietoxins) und durch einen Fall auf den Rücken das Genick brach, haben wir 6 Stunden nach dem Tode in einzelnen Organen und im Serum den Ammoniakgehalt bestimmt und folgende Zahlen erhalten: Gehirn (weisse Substanz) 5.9; Gehirn (graue Substanz) 8.3; Leber 21.6; Milz 7.7; Blutserum 2.2 mg in 100 g frischer Substanz.

Bevor wir aus allen unseren Bestimmungen Schlussfolgerungen ziehen, ist es zweckmässig, die erhaltenen Resultate tabellarisch zusammenzustellen. Da die meisten Bestimmungen an mit Fleisch reichlich gefütterten Hunden ausgeführt wurden, so werden wir sie besonders zusammenstellen, wodurch die Schwankungen bei der Fleischnahrung ersichtlich werden. In je einer Rubrik werden wir die nach Hunger, nach Fütterung mit Brot und Milch beim Hund, sowie die beim Kaninchen, Schaf und Pferd erhaltenen Zahlen geben.

Versuch Nr. 12, wo der Hund 6 Tage hungerte und am 7. Tage 5 Stunden vor der Operation Fleisch erhielt, ist bei der Berechnung der Mittelzahlen nicht aufgenommen worden.

Gehalt des Blutes und der Organe bei Hunden an Ammoniak nach Fleischfütterung in Milligrammen pro 100 g:

Arterielles Blut 1.6 1.4 1.3 } 1.5 im Mittel 1.5 1.7	V. pancreatica 12.0 13.3 } 11.2 im Mittel 8.2	Pankreas 8.8 16.0 } 10.6 im Mittel 7.9	Magenschleimhaut 52.8 43.2 } 47 im Mittel 44.9
Blut d. V. cava 1.1 1.9 } 2.1 im Mittel 3.3	V. mesenterica 8.7 4.8 } 6.7 im Mittel	Milz 13.0 16.7 } 14.8 im Mittel	Mageninhal 16.4 24.3 } 16.9 im Mittel 9.9
Pfortaderblut 8.4 5.6 4.0 } 5.1 im Mittel 3.7 3.8	V. gastrica 6.7 V. haemorrhoidalis 5.7 Lymphe 0.57	Muskel 23.1 34.7 10.7 } 19.4 im Mittel 9.2 19.4	Darmschleimhaut 23.0 41.7 } 31.2 im Mittel 28.9
V. hepatica 1.8 2.0 } 1.4 im Mittel 0.5	Leber 25.7 33.4 29.0 22.8 } 24.0 im Mittel 21.2 12.2	Gehirn 10.7 Niere 20.3 Lunge 1.1	Darminhalt 42.6 40.2 } 35.0 im Mittel 22.4

Hunde nach Hunger 4, resp. 2 Tage.

Arterielles Blut 0.38 Blut d. V. cava 2.8 V. mesenterica 1.2	V. pancreatica 0.25 Leber 7.3	Pankreas 2.6 u. 6.0 Muskel 0.7 u. 4.6	Magenschleimhaut 21.5 Darmschleimhaut 16.2

Hund, mit Milch und Brot ernährt.

Arterielles Blut	Milz	Nieren	Darmschleimhaut
2.7	9.1	12.3	9.4
Leber	Muskel	Magenschleimhaut	Darminhalt
7.6	11.3	16.0	29.0
Pankreas	Gehirn	Mageninhalt	
9.1	5.5	3.4	

Schaf	Leber 13.9, 10.4 — 12.1 im Mittel	Darmschleimhaut 7.2	**Pferd**
Arterielles Blut 1.1	Pankreas 3.5, 4.7 — 4.1 im Mittel	Darminhalt 15.5	Blutserum 2.2
Blutserum 0.7	Niere 8.6, 12.7 — 10.6 im Mittel	**Kaninchen**	Leber 21.6
Blut der V. cava 2.0	Magenschleimhaut 10.9, 11.4 — 11.1 im Mittel	Arterielles Blut 1.4	Milz 7.7
Blut der V. portae 3.3	Mageninhalt 6.0, 7.0 — 6.5 im Mittel	Muskel 5.3	Graue Substanz des Gehirns 8.3
Lymphe 0.45		Leber 4.2	Weisse Substanz des Gehirns [illegible]
Muskel 5.0, 5.1 — 5.5 im Mittel		Magenschleimhaut 8.5	
		Mageninhalt 3.2	

Aus unseren Bestimmungen geht hervor:

1. Dass bei mit Fleisch genährten Hunden das arterielle Blut einen ziemlich constanten Gehalt an Ammoniak hat, der 1.3 bis [illegible], im Mittel [illegible] mg für 100 g beträgt.

2. Dass das Pfortaderblut in seinem Ammoniakgehalte viel schwankender ist: 3.6 bis 8.4, im Mittel 5.1. Es enthält drei- bis viermal mehr Ammoniak als das arterielle und dreieinhalbmal mehr, als das der Lebervene. Es folgt daraus, dass das von dem Verdauungscanal durch die V. portae der Leber zugeführte Ammoniak resp. Carbaminsäure in ihr zurückgehalten, und wie wir dies auf Grund der bisherigen Untersuchungen sagen können, in Harnstoff umgewandelt wird.

3. Noch höheren Ammoniakgehalt als in der Pfortader finden wir bei Fleischnahrung in ihren Aesten — in V. pancreatica [illegible], in V. mesenterica [illegible], V. gastrica [illegible]. Offenbar wird dieser hohe Ammoniakgehalt in den von dem Verdauungscanal kommenden Aesten der Pfortader durch das [illegible] Milzvenenblut herabgedrückt.

4. In der Lymphe ist der Ammoniakgehalt nur ein minimaler, etwa ein Drittel von dem des arteriellen Blutes.

5. Wie sehr der Ammoniakgehalt des Blutes und der Gewebe von der Nahrung abhängig ist, zeigt schlagend der Versuch mit hungernden Hunden. Nach [illegible]tägigem Hunger enthielt das arterielle Blut nur [illegible], das der V. mesenterica [illegible]

und der V. pancreatica 0.25 mg NH_3. Auffallender Weise enthielt dann das Blut der V. cava relativ viel NH_3, nämlich 2.8 mg. Auch bei Fütterung mit Milch und Brot, wo der Gehalt der Organe an NH_3 merklich geringer ist, enthielt das arterielle Blut verhältnissmässig viel, nämlich 2.7 mg NH_3. Doch bedarf es wiederholter Bestimmungen, bevor ein bestimmter Schluss hieraus gezogen werden kann.

Wie gross die Menge des von dem Verdauungscanal herstammenden, durch die Pfortader der Leber zugeführten und in ihr zurückgehaltenen Ammoniaks ist, liesse sich erst dann beurtheilen, wenn die Stromgeschwindigkeit in der Pfortader und der Leberarterie unter verschiedenen Ernährungsverhältnissen genau bekannt wäre. Auf unsere Bitte hatte Herr Prof. Cybulski in Krakau die grosse Freundlichkeit, mit dem von ihm construirten Apparate die Geschwindigkeit des Blutstromes in der Pfortader zu bestimmen. Nach seiner brieflichen Mittheilung ergab ihm ein genau ausgeführter Versuch folgende Zahlen: Gewicht des Hundes 9.5 kg, Gewicht der Leber 263 g. Die Menge des die Pfortader durchströmenden Blutes schwankte zwischen 2.35 bis 2.7 ccm in der Secunde = 8460 bis 9720, im Mittel 9090 ccm in einer Stunde. Leider ist nicht angegeben, ob der Versuch während der Verdauung oder im nüchternen Zustande ausgeführt wurde. Durch die Arterie erhält die Leber 1.5 mg, durch die Pfortader 5.1; im Ganzen 6.6 mg in 100 ccm. Von den 6.6 mg gehen in die Lebervene 1.4 über, folglich würden 5.2 mg in der Leber zurückgehalten. Für die in unserem Falle durchfliessende Blutmenge = 9090 ccm berechnet sich die Menge des an die Leber in einer Stunde abgegebenen Ammoniaks auf 0.47 g. In den zehn nach reichlicher Fleischnahrung folgenden Verdauungsstunden würde der Hund (9.5 kg schwer) etwa 4.73 g Ammoniak, vom Verdauungscanal herrührend, in der Leber zu Harnstoff umsetzen, was 8.3 g Harnstoff entsprechen würde. Hoffentlich werden in nicht allzu ferner Zeit weitere Bestimmungen der Stromgeschwindigkeit in der Pfortader unter verschiedenen Ernährungsverhältnissen, die Prof. Cybulski in Aussicht gestellt hat, uns hierüber genauere Kenntniss verschaffen.

Das vom Verdauungscanal der Leber zuströmende Ammoniak ist doppelten Ursprungs. Ein Theil davon rührt vom Ammoniakgehalt der Nahrungsstoffe, resp. der Zersetzung des Speisebreies im Darme, der andere zweifellos von den chemischen Umsetzungen in den Schleimhäuten, namentlich der Magenschleimhaut, während der Secretion des Saftes her. Der durchschnittliche Ammoniakgehalt im Mageninhalt ist in unseren Versuchen = 16.9 mg auf 100 g Substanz. Fast denselben Werth, nämlich 17 mg pro 100 g, erhielt Dr. H. Strauss[1]) als die häufigste Zahl bei seinen Ammoniakbestimmungen im menschlichen Mageninhalt. Bei Pflanzenfressern, sowie bei Hunden nach Fütterung mit Milch und Brot, ist der Ammoniakgehalt im Mageninhalt geringer. Auch im Darminhalt finden wir den höchsten Ammoniakgehalt bei Fleischfütterung. Bei gemischter Kost reagirt der menschliche Dünndarminhalt bis zu der Ileocöcalklappe sauer; ebenso bei Hunden nach gemischter oder vorwiegender Brotnahrung. Nach reichlicher Fleischfütterung reagirte der Dünndarminhalt alkalisch und enthielt bis zu 42 mg NH_3 pro 100 g. Der Ammoniakgehalt

[1]) Berliner klin. Wochenschr. 1893. Nr. 17.

im Dünndarminhalt beim Pflanzenfresser und beim Hund nach gemischter Nahrung ist immer geringer.

Constant, sowohl beim Hunde wie bei dem Pflanzenfresser, ist der Ammoniakgehalt der Magenschleimhaut mehr als doppelt so gross wie der des Mageninhalts. Dieser hohe Ammoniakgehalt deutet auf eine energische und weitgehende Zersetzung der Proteïnsubstanzen in der Magenschleimhaut während der Saftbildung. Schon im nüchternen Zustande, wo der Magen leer ist, enthält die Magenschleimhaut 20 mg NH_3 pro 100 g. Dieser Ammoniakgehalt steigt während der Secretion des Saftes auf mehr als das Doppelte. Einen entscheidenden Beweis dafür, dass der hohe Ammoniakgehalt der Magenschleimhaut einzig und allein den chemischen Processen während der Drüsenthätigkeit seinen Ursprung verdankt, glauben wir durch folgenden Versuch geliefert zu haben:

Ein oesophago- und gastrotomirter Hund, 33 kg schwer, von dem wir seit mehreren Jahren Magensaft entnahmen und an welchem die im Archiv f. exper. Path. u. Pharm.[1]) publicirten Arbeiten über den Magensaft und das Pepsin bei Hunden und über die Bildung von Bromwasserstoff im Magensafte aus Bromnatrium ausgeführt wurden, wurde für diesen Versuch geopfert. Der Hund war vollkommen gesund und erhielt in den letzten Wochen täglich 700 g Fleisch, 1200 ccm Milch und 100 g Brot. Zwei Tage vor dem Versuche erhielt er durch die Magenfistel seine letzte Portion Fleisch. Am folgenden Tage Morgens 6 Uhr nur 600 g Milch. Am nächsten Tage Morgens 600 g Wasser durch die Schlundsonde. Um 2 Uhr begannen wir mit der Scheinfütterung. Der Hund frass gierig das Fleisch, das zum Halse wieder herausfiel und wie immer, genau sechs Minuten später, begann die Saftsecretion. Während $2^1/_2$ stündiger Scheinfütterung wurden 270 ccm vollkommen reinen Saftes gesammelt. Sofort hierauf wurde der Hund aufgebunden und aus Arteria femoralis verblutet. Der Magen war ganz leer; auch im Darme waren nur minimale Mengen von Schleim vorhanden. Die Magen- und Darmschleimhaut wurden herauspräparirt und darin, sowie im Magensafte, der Leber und im Pankreas der Ammoniakgehalt bestimmt. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Magenschleimhaut	45	19.0	42.2
Darmschleimhaut	51	12.5	24.6
Pankreas	37	6.9	18.6
Leber	76	16.2	21.3
Magensaft	50	2.0	4.0

Wir finden demnach nach der Scheinfütterung bei leerem Magen den gleichen hohen Ammoniakgehalt in der Magenschleimhaut, wie nach reichlicher Fleischfütterung. Ein geringer Theil des Ammoniaks geht in den Magensaft über. Der

[1]) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 336 u. **34**, 313. — Dieser Band S. 379 u. 47?.

hohe Ammoniakgehalt in der V. pancreatica rührt jedenfalls von den chemischen Processen in dem secernirenden Pankreas her. Das Gleiche gilt wohl von den Mundspeicheldrüsen. Einer früheren Bestimmung Wurster's[1]) zu Folge enthält der Mundspeichel in 100 g 13.6 mg NH_3. Aus den Versuchen Panum's[2]) und Anderer ist es bekannt, dass nach Nahrungszufuhr etwa die Hälfte des in Form von Eiweiss zugeführten Stickstoffs in den ersten sechs Stunden als Harnstoff ausgeschieden wird. Ein Theil dieses Harnstoffs rührt jedenfalls her von dem durch die Arbeit der Verdauungsdrüsen gebildeten Ammoniak.

Ist bei Säugethieren die Leber der ausschliessliche Sitz der Harnstoffbildung? Am Schlusse unserer Arbeit über die Folgen der Eck'schen Fistel[3]) kamen wir zu folgendem Ergebniss: „Es bleibt unentschieden, ob bei den Säugethieren die Leber das einzige Organ ist, das aus carbaminsaurem Ammoniak Harnstoff bildet, da Hunde mit fast gänzlich exstirpirter Leber oder mit Venenfistel und unterbundener Leberarterie noch immer Harnstoff in ihrem Harne hatten.“ Jetzt wissen wir, dass ein erheblicher Theil des täglich ausgeschiedenen Harnstoffs von dem Ammoniak herrührt, das durch die Pfortader der Leber zugeführt wird. Unsere Untersuchungen zeigen aber, dass ausser der Leber noch alle anderen Organe, so namentlich die Muskeln, einen erheblich höheren Ammoniakgehalt als das Blut des grossen Kreislaufs haben. Die Versuche v. Schröders[4]) sowie die von Salomon[5]) sprechen aber dafür, dass Muskel und Niere nicht im Stande sind, aus Ammoniaksalzen Harnstoff zu bilden. Ein weiterer Beweis dafür, dass der Muskel keinen Harnstoff bildet, dürfte die Thatsache sein, dass in demselben kein Harnstoff gefunden wird.

Bevor wir auf die Beantwortung der obigen Frage eintreten, ist es am Platze, die Resultate unserer Analysen des Blutes und der Organe eines Hundes mit Venenfistel und Vergiftung mit Ammoniak mitzutheilen.

Einem männlichen Hunde, 22.2 kg schwer, wird am 20. Mai die Venenfistel angelegt. Der Hund überlebt die Operation und nach zehntägiger sorgfältiger Pflege erholt er sich von dem schweren Eingriffe. Am 1. Juni ist der Hund ganz munter, sein Gewicht = 18.3 kg. An diesem Tage wird aus einem Aste der Arteria femoralis etwas Blut zur Ammoniakbestimmung entnommen. Gefunden in 42 g Blut 0.6 mg NH_3 = 1.4 mg in 100 g, also ganz normaler Ammoniakgehalt. Während bis dahin der Hund vorwiegend mit Milch und Bouillon ernährt war, gehen wir jetzt zu stickstoffreicher Nahrung über.

2. Juni. Gewicht des Hundes 17.9 kg. 10 Uhr Morgens erhält der Hund per Schlundsonde 400 ccm Milch + 40 g Fleischpulver. Um 11 Uhr frisst er von selber noch 40 g Fleischpulver. Um 7 Uhr Abends erhält er 400 ccm Milch + 50 g Fleischpulver; um 8 Uhr Abends 300 ccm Bouillon und 30 g Fleisch-

---

[1]) Ber. **22**, 1903.

[2]) Vergl. in Maly's Jahresber. **14**, **15** und **17** die Arbeiten v. Herzfeld, sowie Gley und Ch. Richet, wo die letztgenannten Autoren dasselbe auch für den Menschen bestätigen.

[3]) Archiv für exper. Path. u. Pharm. **32**, 209. — Dieser Band S. 329.

[4]) Ebenda **15**, 364.

[5]) Virchow's Archiv **97**, 149.

pulver. Eine halbe Stunde später erbricht der Hund fast Alles. $11^1/_2$ Uhr Nachts hat er wiederum Erbrechen.

3. Juni. Früh Morgens frisst der Hund von selber 56 g Fleisch und 100 g Wurst. Nachmittags $3^1/_2$ Uhr frisst er noch von selber 60 g Wurst und um 4 Uhr erhält er per Schlundsonde 500 g Milch mit 40 g Fleischpulver. In der Nacht hat der Hund Erbrechen. Der am Morgen des 3. Juni in ein untergehaltenes Gefäss gelassene Harn vom specifischem Gewicht 1.037 reagirt alkalisch und enthält Carbaminsäure. Es wird darin Ammoniak nach unserem Verfahren und der Gesammtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Gefunden in 100 ccm Harn: 0.1435 g NH_3, entsprechend 0.118 g N, ferner 2.47 g Gesammtstickstoff. Das Verhältniss des Ammoniakstickstoffs zum Gesammtstickstoff ist = 4.8 : 100.

4. Juni. Gewicht des Hundes 18.2 kg. 11 Uhr Morgens erhält er 500 g Milch mit 60 g Fleischpulver. 3 Uhr Mittags 500 g Milch mit 70 g Fleischpulver, um 7 Uhr Abends 500 g Milch mit 70 g Fleischpulver. Eine halbe Stunde darauf wird der Hund aufgeregt, läuft im Zimmer umher und bellt verschiedene Gegenstände an; um 9 Uhr starkes Erbrechen. Der um 4 Uhr Abends in ein untergehaltenes Gefäss gelassene Harn reagirt schwach alkalisch; specifisches Gewicht 1.035. Mit dem gleichen Volumen abgekühlter concentrirter Salpetersäure versetzt, erstarrt er zu einem Krystallbrei des salpetersauren Harnstoffs und giebt Carbaminsäurereaction. Die Analyse lieferte folgende Zahlen: Gesammtstickstoff 2.21 Proc.; Ammoniak gefunden 0.1789 = 0.1471 Proc. Stickstoff im Ammoniak. Das Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff ist = 6.6 : 100. Hier ist der Ammoniakstickstoff schon merklich erhöht. In unseren früheren Versuchen [1]) fanden wir, dass der Ammoniakstickstoff im Hundeharn im Mittel 3.8 Proc. des Gesammtstickstoffs beträgt. Für menschlichen Harn beim Gesunden und bei gemischter Kost schwankt diese Zahl nach Weintraud [2]) zwischen 3.5 bis 5.0 Proc. und war im Mittel aus 15 Beobachtungen = 4.1 Proc.

5. Juni. Am Morgen befindet sich der Hund relativ wohl. Sein Gewicht beträgt 18.6 kg. Der Hund erhält um 11 Uhr Morgens 500 ccm Milch mit 70 g Fleischpulver; um 3 Uhr 500 ccm Milch mit 70 g Fleischpulver; um $^1/_2$8 Uhr 300 ccm Milch mit 50 g Fleischpulver. Gleich darauf erbricht der Hund fast die ganze Nahrung. Der an diesem Tage gelassene Harn reagirt alkalisch. Specifisches Gewicht 1.019; qualitativ ist darin Carbaminsäure nachweisbar. Die Stickstoffbestimmungen ergaben darin folgende Zahlen: Gesammtstickstoff 0.97 Proc.; Ammoniak gefunden 0.0455 Proc. = 0.0376 Proc. Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff : Gesammtstickstoff = 3.9 : 100.

6. Juni. Gewicht des Hundes 18.3 kg. Er erhält um 11 Uhr Morgens 500 ccm Milch mit 150 g Fleischpulver. Um 4 Uhr erbricht der Hund 400 g flüssigen Mageninhalts. Es werden ihm hierauf aus einem Ast der Arteria femoralis der anderen Seite 100 ccm Blut zur Analyse entzogen. Um 6 Uhr erhält er 500 ccm Milch mit 50 g Fleischpulver, die er nicht mehr erbricht. Die Ammoniak-

[1]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **32**, 102. — Dieser Band S. 316.

[2]) Ebenda **31**. 30.

bestimmung im Blute ergiebt folgende Zahlen: In 41 g Blut gefunden 1.0 mg NH_3 = 2.4 mg in 100. Der an diesem Tage gelassene Harn ist stark alkalisch von hohem specifischem Gewicht = 1.038. Die Stickstoffbestimmungen im Harne ergaben: Gesammtstickstoff = 2.60 Proc.; Ammoniak = 0.1604 Proc. = 0.1319 Proc. Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff : Gesammtstickstoff = 5.1 : 100.

7. Juni. Gewicht des Hundes 18.3 kg. Er erhält um 11 Uhr Morgens und 6 Uhr Abends 500 g Milch mit 70 g Fleischpulver; in der Nacht erbricht der Hund.

8. Juni. Gewicht des Hundes 18.1 kg. Er erhält um 11 Uhr Morgens und 6 Uhr Abends je 400 g Milch mit 100 g Fleischpulver. Um $^1/_2$7 Uhr Abends Erbrechen, das sich in der Nacht noch zwei Mal wiederholt. Die Stickstoffbestimmungen im Harne ergeben folgende Zahlen: Gesammtstickstoff = 3.03 Proc.; Ammoniak = 0.1671 Proc. = 0.1374 Proc. Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff : Gesammtstickstoff = 4.5 : 100.

9. Juni. Gewicht des Hundes 18.0 kg. Der Hund ist schwach, kann nicht gut auf den Beinen stehen. Im Laufe des Tages bessert sich sein Zustand. Er erhält um 11 und um 6 Uhr je 400 g Milch und 100 g Fleischpulver. Um 7 Uhr Erbrechen.

10. Juni. Gewicht des Hundes 17.9 kg. Er erhält die Nahrung wie am vorigen Tage. Sein Zustand ist gut, er läuft auf dem Hofe herum und erbricht erst in der Nacht. Der im Laufe des Tages gelassene Harn reagirt stark alkalisch. Specifisches Gewicht 1.042. Gefunden Gesammtstickstoff 3.19 Proc.; Ammoniak 0.1739 Proc. = 0.1426 Proc. Ammoniakstickstoff. Ammoniakstickstoff : Gesammtstickstoff = 4.47 : 100.

11. Juni. Der Hund erhält die gleiche Nahrung wie am vorigen Tage; in der Nacht Erbrechen.

12. Juni. Gewicht des Hundes 17.9 kg. Der Allgemeinzustand des Thieres wie an den vorhergehenden Tagen anscheinend gut. Der Hund wird nur von grossem Durst geplagt und trinkt gierig die ihm vorgesetzte Milch, wovon er im Laufe des Tages mehr als $1^1/_2$ Liter getrunken. Jede andere Nahrung, selbst Wurst, verweigert er. In der Nacht Erbrechen.

13. Juni. Gewicht 18.0 kg. Morgens der Zustand anscheinend gut. Der Hund erhält um 11 Uhr 400 g Milch mit 100 g Fleischpulver und im Laufe des Tages noch ein Liter Milch. Der Hund erbricht nicht, ist aber gegen Abend sehr schwach.

14. Juni. Gewicht 18.3 kg. Um 6 Uhr Morgens ist der Hund sehr schwach, Zittern und unsicherer Gang. Gegen 9 Uhr ist das Befinden besser, um 11 Uhr erhält der Hund in 400 g Milch 100 g 15 proc. Lösung von neutralem citronensaurem Ammoniak. Durch einen von Herrn Dr. E. Kotljar am gesunden Hunde von gleichem Gewicht angestellten Controlversuch haben wir gesehen, dass diese Dose bei gesunden Hunden weder Erbrechen noch irgend welche Störungen des Wohlbefindes zur Folge hatte. Eine Viertelstunde, nachdem wir unserem Hunde die Ammoniaklösung per Schlundsonde injicirten, erbrach er den grössten Theil der Flüssigkeit. Um 12 Uhr wurde ihm reine Milch vorgesetzt, die er jedoch nicht trinken wollte. Kurz darauf verfiel er in klonische, etwa 10 Minuten dauernde

Krämpfe, dann trat Anästhesie und vollkommmene Blindheit. In diesem Stadium der Vergiftung wurde er aufgebunden und aus der Carotis verblutet. Die Autopsie ergab: starkes Fettpolster und reichliche Fettablagerung im Netz und um die Nieren. Die Leber sehr verkleinert, mehr als auf die Hälfte des normalen Volumens und von gelber Färbung. Die von Dr. Selinow ausgeführte mikroskopische Untersuchung ergab Atrophie der Leberzellen und fettige Degeneration derselben. In den Nieren war stark ausgesprochene, trübe Schwellung der Epithelzellen der Harncanälchen. Die mikroskopische Untersuchung des Herzens, der Schleimhaut, des Magens und des Darms, sowie der Milz, hat keine merklichen Veränderungen ergeben. Die herauspräparirte Stelle, wo die Venen vernäht waren, zeigte eine 1 cm weite Oeffnung, die in der Mitte durch eine schmale, etwa 1 mm breite Schicht von neugebildetem Gewebe überbrückt war. Jedenfalls war die Oeffnung gross genug, um alles Blut der Pfortader in die Vena cava hindurchzulassen. Die sofort vorgenommenen Ammoniakbestimmungen in den einzelnen Organen, im Blute und im Harne, ergaben folgendes Resultat:

Name des Organs	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefundenes NH_3 in mg	In 100 g Substanz NH_3 in mg
Blut aus der Carotis	40	2.2	5.5
Magenschleimhaut	[illegible]	10.6	42.6
Leber	40	0.8	20
Muskel	55	8.0	15.6
Gehirn	[illegible]	17.0	20.9
Nieren	[illegible]	14.0	19.2

In der Blase waren 180 ccm eiweissfreien Harns (wie überhaupt der Harn des Hundes stets eiweissfrei war) von schwach saurer Reaction, specifisches Gewicht 1.015. Bei den Stickstoffbestimmungen desselben wurden folgende Zahlen erhalten: Gesammtstickstoff [illegible] Proc.; Ammoniak [illegible] Proc. = 0.1723 Proc. Ammoniakstickstoff. Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff = 16.4:100.

Wenn wir die Resultate dieses Versuches zusammenfassen, so sehen wir, dass nach erfolgter Wundverheilung der Ammoniakgehalt des Blutes ein normaler ist. Mit dem Uebergange zu stickstoffreicher Nahrung steigt der Ammoniakgehalt des arteriellen Blutes von [illegible] auf [illegible] mg. Dabei ist das Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff nur um ein weniges über das normale erhöht. Selbst am [illegible] Juni wo dem Hunde eine grosse Menge Fleischpulver aufgezwungen wurde und er die ersten Symptome der Carbaminsäurevergiftung zeigte, betrug der Ammoniakstickstoff nur [illegible] Proc. des Gesammtstickstoffs. An anderen Tagen ist das Verhältniss fast normal. Der Grund hiervon liegt darin, dass der Hund, trotz fortschreitender Erkrankung der Leber, durch das tägliche Erbrechen sich des überschüssigen Stickstoffes entledigte. Am [illegible] Juni erbrach der Hund nicht und am folgenden Tage war die Folge das Auftreten von Vergiftungssymptomen, welche durch die Eingabe von carbaminsaurem Ammoniak bedeutend gesteigert wurden.

Die Untersuchung des Blutes und der Organe zur Zeit, wo der Hund Krämpfe, Anästhesie und Amaurose hatte, bestätigte einerseits die auf Grund unserer ersten Untersuchung ausgesprochene Ansicht, dass nach Anlegung der Eck'schen Fistel die Ursache der beobachteten Vergiftungserscheinungen in der Anhäufung von Carbaminsäure im Blute und den Organen liegt; andererseits giebt sie den schönsten Beweis dafür, dass die Leber selbst unter physiologischen Verhältnissen den Organismus fortwährend vor Ammoniak- resp. Carbaminsäurevergiftung schützt. In der That, zur Zeit, wo unser Hund die schweren Vergiftungserscheinungen zeigte, enthält das arterielle Blut fast dieselbe Menge Ammoniak (5.5), wie sie bei Fleischnahrung durch das Pfortaderblut (5.1) täglich der Leber zugeführt wird. Die Leber ist also der treue Wächter des Organismus, der die von dem Verdauungscanal kommenden, für die anderen Organe giftigen Substanzen in ungiftige verwandelt; denn, was für Ammoniak gilt, dürfte auch nach der Analogie für die substituirten Ammoniake, verschiedene Pflanzenalkaloide, Bacteriengifte u. s. w. gelten. Bekanntlich wirken viele von den Bacterientoxinen nur nach directer Injection in das Blut giftig und nicht vom Magen aus. Es wiederholt sich auch hier, was wir schon in unsererer ersten Arbeit hervorgehoben haben[1]), dass die Ammoniakmenge im Harne, absolut genommen, gar nicht sehr bedeutend zu sein braucht und dass es hauptsächlich auf das relative Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff ankommt. Im vorliegenden Falle enthielt der Harn 0.2 Proc. NH_3; das Verhältniss aber war = 16.4 : 100. In unseren früheren Versuchen war der Ammoniakgehalt des Harnes vor der Operation in einem Falle z. B. 0.5 Proc., sein Verhältniss zum Gesammtstickstoff wie 4 : 100. Nach der Operation, zur Zeit, wo die Thiere intensive Vergiftungserscheinungen zeigten, betrug der Ammoniakstickstoff 10 bis 20 Proc. des Gesammtstickstoffs. Interessant ist es, damit die von Weintraud[2]) und Münzer[3]) am Menschen gemachten Beobachtungen zu vergleichen. So konnte Weintraud nur in einem Falle von Lebercirrhose, wo der Patient schon in tiefem Coma lag, etwa 10 Stunden vor dem Tode das Unvermögen der Leber, aus citronensaurem Ammoniak Harnstoff zu bilden, constatiren. In den zwei von Münzer mitgetheilten Fällen von acuter, gelber Leberatrophie und Phosphorvergiftung, wo auch die mikroskopische Untersuchung einen vollständigen, nekrotischen und fettigen Zerfall der Leberzellen constatirte, war in dem kurz vor dem Tode entnommenen Harne das Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff wie 70.0 resp. 32.6 : 100. Auf Grund seiner Beobachtung am Menschen sagt Weintraud, dass die harnstoffbildende Function der Leber eine für den Organismus derart bedeutsame ist, dass wahrnehmbare Störungen derselben mit dem Fortbestehen des Lebens sich nicht vereinbaren lassen. Dieser Satz bedarf insofern einer Berichtigung, als im Thierexperiment schon lange vor dem Tode diese Störung wahrgenommen werden kann. So ertragen die Hunde mit Eck'scher Fistel keine Fleischfütterung, vermögen nicht

[1]) Archiv. f. exp. Path. u. Pharm. **32**, 193 f. — Dieser Band S. 316 u. f.

[2]) Ebenda. **31**, 37.

[3]) Ebenda **33**, 193 f.

verfütterte Ammoniaksalze in Harnstoff umzuwandeln und zeigen nach Dosen, die für gesunde Thiere indifferent sind, die hochgradigsten Vergiftungserscheinungen. Ein wahrnehmbares Zeichen auch beim Menschen ist der gesteigerte Procentgehalt des Ammoniakstickstoffs im Harn. In den Fällen, wo nach Eingabe von Ammoniaksalzen keine Steigerung im Procentgehalt des Ammoniakstickstoffs stattfindet, ist offenbar die Zahl der functionsfähigen Leberzellen gross genug, um noch dieses Plus von NH_3 zu bewältigen. Wie die klinische Beobachtung und das Thierexperiment zeigt, vermag selbst nach sehr umfangreichen Verödungen des Leberparenchyms der zurückbleibende functionsfähige Rest der Zellen den zur Erhaltung des Lebens nöthigen Dienst zu versehen. Dem analog sind auch die an der Schilddrüse gemachten Beobachtungen.

Der Ammoniakgehalt der Leber, der Muskeln, der Nieren und der Magenschleimhaut des Venenfistelhundes weicht nicht von dem der gesunden Hunde ab. Ausser Blut zeigt nur das Gehirn einen doppelt so grossen Ammoniakgehalt (20.9) wie beim Hunde nach Fleischfütterung (10.7). Nach Brot- und Milchfütterung fanden wir im Hundehirn 5.5 und beim Pferd in der grauen Substanz 8.3, in der weissen 5.9 mg NH_3 in 100 g. Dieser Umstand ist beachtenswerth und vielleicht sind die bei unseren Hunden sowie beim Menschen beobachteten cerebralen Störungen hierauf zurückzuführen. Bemerkenswerth ist ferner der Fettansatz und die Thatsache, dass während der zwei Wochen forcirter, stickstoffreicher Nahrung das Körpergewicht des Hundes constant blieb, im Gegensatz zu unseren früheren Venenfistelhunden, die fortdauernd bis zum Tode an Körpergewicht abnahmen.

Der von Lieblein[1]) gegen uns erhobene Einwand, es sei die im Harne gefundene Ammoniakmenge viel zu gering, um daraus die nach der Eck'schen Fistel, resp. nach der Leberexstirpation auftretenden Intoxicationserscheinungen zu erklären, erledigt sich durch die voranstehenden Zahlen. Thatsächlich zeigen die Hunde mit Eck'scher Fistel nach Fütterung mit carbaminsaurem Natron oder citronensaurem Ammoniak in Dosen, welche für gleich grosse Hunde ganz unschädlich sind, die intensivsten Vergiftungserscheinungen. Die Menge des Ammoniaks im Blute des Hundes zur Zeit der schweren Vergiftung war, absolut genommen, ganz gering — 5.5 mg in 100 ccm Blut. — Sie überstieg aber den normalen Gehalt des arteriellen Blutes um das 3.66fache! Der Grund, weshalb die Thiere mit Venenfistel oder nach Zerstörung des Lebergewebes schon bei so niedrigem Ammoniakgehalte des Blutes vergiftet wurden, liegt eben darin, dass die Leber das Ammoniak nicht mehr oder nicht vollständig zu Harnstoff umwandeln kann. Gesunden Thieren müssen unvergleichlich grössere Dosen von carbaminsauren Salzen — 0.3 bis 0.6 g per Kilogramm — intravenös beigebracht werden, um ähnliche Vergiftungserscheinungen hervorzurufen, wovon sich meistens die Thiere auch bald erholen, denn die Umwandlung des Ammoniaks resp. der Carbaminsäure zu Harnstoff ist eine fast momentane. Zur Zeit, wo der Hund im arteriellen Blute 5.5 mg NH_3 hatte, enthielt der Harn nur 0.2 Proc. Ammoniak. Absolut genommen ist diese Menge gar nicht abnorm gross. Der Procentgehalt an Ammoniak im Harne gesunder Thiere ist öfters

[1]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm. **33**, 335.

ebenso gross. Maassgebend ist hier das Verhältniss von Ammoniakstickstoff zu Gesammtstickstoff, das in vorliegendem Falle statt 4 : 100, 16.4 : 100 beträgt.

Von allen operativen Eingriffen, welche zur Erklärung der Leberfunction gemacht wurden — Unterbindung der drei Darmarterien, Leberexstirpation, Venenfistel, Eingiessen von Säure in den Ductus choledochus — hat die Venenfistel am meisten zur Aufklärung beigetragen. Hier sehen wir den ursächlichen Zusammenhang: Ableitung des Pfortaderblutes in die Vena cava, wodurch der Leber die Möglichkeit genommen ist, das Ammoniak des Pfortaderblutes in Harnstoff umzuwandeln; Anhäufung des Ammoniaks im Blute; Intoxication. Hier kann von „einer tiefgreifenden Abnahme aller vitalen Functionen, welche in letzter Reihe auch die elementarsten chemischen Leistungen des Organismus, darunter die Harnstoffbildung, trifft", nicht die Rede sein. Füttert man Venenfistelhunde mit carbaminsaurem Natron oder Fleisch, so zeigen die Thiere die stärksten Vergiftungssymptome, können sich aber davon ganz erholen, Tage und Wochen lang relativ wohl befinden, bis eine erneute, von der kranken Leber nicht mehr zu bewältigende Zufuhr Ammoniak liefernder Nahrung den Tod herbeiführt. Wir sind aber weit davon entfernt, die übermässige Ammoniakzufuhr in allen Fällen als den ausschliesslich schädigenden Factor zu betrachten. Sicher ist das Ammoniak nicht die einzige schädliche Substanz, welche der Leber mit dem Pfortaderblute zugeführt wird und die sie zu entgiften hat. Es ist möglich, dass nach Säureinfusion durch den Ductus choledochus oder Unterbindung der Darmarterien in der Leber selbst giftige Producte entstehen. Die nach diesen Eingriffen oder nach der Leberexstirpation sich im Organismus abspielenden Processe alle zu erkennen und sie aus einander zu halten, wird uns nicht so bald gelingen. Wie die klinische Erfahrung und die Versuche von uns, Pick und Lieblein an Thieren zeigen, erfolgt häufig der letale Ausgang noch, bevor eine Zunahme des Ammoniakstickstoffs oder eine Verminderung des Harnstoffes im Harne zu bemerken sind.

In unseren ersten Versuchen haben wir nach Anlegung der Venenfistel resp. Venenfistel und Arterienligatur, die Harnsäure in dem alkalisch reagirenden Harne erheblich vermehrt gefunden. Wir liessen es offen, ob diese vermehrte Ausscheidung der Harnsäure von einer Steigerung der Alkalescenz herrührt oder eine andere Ursache hat. Nachdem nun Lieblein constatirte, dass nach Zerstörung des Leberparenchyms durch Säureinjection in den Ductus choledochus, in dem sauer reagirenden Harne die Harnsäure ebenfalls vermehrt ist, glauben auch wir, dass seine Erklärung, wonach die vermehrte Harnsäure auf ausgedehnten Kernschwund der Leberzellen und consecutive Abspaltung der Nucleïnbasen zurückzuführen sei, dem wirklichen Sachverhalte entspricht.

Wir kommen jetzt auf die oben aufgeworfene Frage: Ist die Leber bei Säugethieren der ausschliessliche Sitz der Harnstoffbildung? zurück.

Auf Grund:

1. der Durchblutungsversuche von v. Schröder und Salomon,

2. der Thatsache, dass das mit dem Pfortaderblute zugeführte Ammoniak in der Leber zurückgehalten wird, und

3. der sehr erheblichen Verminderung des Harnstoffes im Harne, nach möglichst vollständiger Exstirpation der Leber, erachten wir die harnstoffbildende Function der Leber als erwiesen.

Der Umstand, dass bei Venenfistelhunden sich früher oder später Carbaminsäurevergiftung einstellt, wobei der Ammoniakgehalt des Blutes mehr als das Dreifache des Normalen beträgt, zeigt deutlich, dass, selbst wenn die anderen Organe Harnstoff aus carbaminsaurem Ammoniak zu bilden vermöchten, für die Dauer sie die hierauf bezügliche Leistung der Leber zu compensiren nicht im Stande sind und folglich die Mitwirkung der Leber hierbei für den Organismus eine Lebensfrage ist. Wir müssen bedenken, dass der Leber ausser dem Ammoniak aus dem Verdauungscanal und durch die Leberarterie noch indirect durch die Darmarterien, welche vermittelst der Capillaren ihr Ammoniak wieder an die Pfortader abgeben, aus dem grossen Kreislaufe Ammoniak zugeführt wird. Die Leber hat die Aufgabe, nicht allein das Ammoniak aus dem Verdauungscanal, sondern auch einen erheblichen Theil des in anderen Organen gebildeten Ammoniaks in Harnstoff zu verwandeln. Andererseits enthält nach unseren Bestimmungen das von den Geweben abfliessende, venöse Blut einen wechselnden, aber durchschnittlich merklich höheren Ammoniakgehalt, als das arterielle. (Im Mittel 2.7 in der Vena cava, gegen 1.5 in der Arterie.) Namentlich ist bei Hungerhunden und den Pflanzenfressern der Unterschied bedeutend. Drechsel hat die Carbaminsäure im Blute nachgewiesen und bei dem geringen Ammoniakgehalte des Blutes ist vielleicht alles Ammoniak unter normalen Ernährungsverhältnissen nur in Form des carbaminsauren Salzes darin enthalten. Da das arterielle Blut weniger Ammoniak als das venöse enthält, so ist es möglich, dass schon im fliessenden Blute, noch bevor es das linke Herz erreicht, eine Umwandlung des carbaminsauren Ammoniaks zu Harnstoff vor sich geht. Ob die Lunge hierbei einen activen Antheil hat, wäre auch noch zu untersuchen.

Eine andere wichtige Frage ist folgende: Wird der Harnstoff nur aus Ammoniak resp. Carbaminsäure im Thierkörper gebildet? Aus den bekannten Untersuchungen von Voit, sowie den späteren von Pflüger und Bleibtreu wissen wir, dass durchschnittlich 86.6 Proc. des Eiweissstickstoffes im Organismus zu Harnstoff umgewandelt werden. Der eine von uns[1]) hat, gemeinschaftlich mit Schultzen, vor vielen Jahren gezeigt, dass die nächsten Spaltungsproducte des Eiweisses, wie Leucin und Glycocoll, an Hunde verfüttert, als Harnstoff ausgeschieden werden. Streng genommen ist für die Leber nur die Fähigkeit, aus Ammoniak Harnstoff zu bilden, nachgewiesen. Wenn beim Durchleiten durch die Leber von Blut, dem ameisensaures Ammoniak zugesetzt worden, in derselben Harnstoff entsteht, so spielt die Ameisensäure dabei keine Rolle. In den alkalisch reagirenden Leberzellen wird sich ameisensaures Natron und kohlensaures, resp. carbaminsaures Ammoniak bilden, das dann zu Harnstoff wird. Vermag aber die Leber, wenn dem Blute statt ameisensaurem Ammoniak Glycocoll oder Leucin zugesetzt wird, dasselbe direct in Harnstoff zu verwandeln, oder müssen diese Amidosäuren erst in einem anderen Organe zu Carbaminsäure oxydirt werden? Es ist möglich, dass in anderen Or-

[1]) Nencki's Opera omnia 1, 1.

ganen die zahlreichen, stickstoffhaltigen Spaltungsproducte des Eiweisses direct zu Harnstoff werden, ohne vorher zu Carbaminsäure oxydirt zu sein. Aus Lysatinin und Arginin wird durch einfache Hydratation Harnstoff abgespalten. Mehr als 10 Proc. des Eiweissstickstoffes werden in unseren Organen in chemisch dem Harnstoff nahestehende Substanzen verwandelt, ohne dass wir ihre Bildung der Leber zuschreiben. Direct aus Eiweiss vermag die Leber keinen Harnstoff zu bilden. Das geht aus den Versuchen von Schöndorff[1]) hervor. Das Blut hungernder Hunde unterscheidet sich, was den Gehalt an Serumeiweiss betrifft, in nichts von dem gut gefütterter Hunde. Wird solches Serumeiweiss verfüttert, so findet eine, dem Stickstoffgehalte desselben entsprechende Steigerung des Harnstoffes im Harne statt. Dagegen bei der Durchleitung von Hungerblut durch die Organe und Leber eines hungernden Thieres findet keine Veränderung im Harnstoffgehalte des Blutes statt. Wohl aber ist der Harnstoff im Blute vermehrt, wenn Hungerblut durch die Organe und Leber eines gut genährten Thieres durchgeleitet wird. Unsere Bestimmungen haben eben gezeigt, wie gross der Ammoniakgehalt der Muskeln und der Leber wohlgenährter, im Vergleich zu dem hungernder Thiere ist. Im zweiten Falle nimmt das Hungerblut beim Durchleiten durch die Hinterextremität des mit Fleisch genährten Hundes das vorhandene Ammoniak auf, das dann beim nachherigen Durchleiten durch die Leber zu Harnstoff umgewandelt wird.

Wir kommen daher zu dem Schlusse, dass es für den Säugethierkörper voreilig wäre, die Harnstoffbildung ausschliesslich in die Leber zu verlegen. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass in allen Organen nach Eiweisszufuhr neben erhöhter Oxydation eine vermehrte Ammoniakbildung stattfindet, die bei Hunger auf ein Minimum herabsinkt. Der grösste Theil des Nahrungsstickstoffes dürfte daher in den Organen zu Carbaminsäure oxydirt werden, welche wiederum, wenn nicht alle, so doch zum grossen Theil, in der Leber zu Harnstoff wird.

Zum Schlusse erfüllen wir die angenehme Pflicht, Herrn Dr. E. Kotljar, der uns namentlich bei den Operationen geholfen hat, unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Eine Bemerkung, die Ausscheidung dem Organismus fremder Stoffe in den Magen betreffend

von

M. Nencki.

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. 36, 400.

Die unter obigem Titel von Dr. P. Bongers im 35. Bd., S. 415 des Archivs für experimentelle Pathologie und Pharmakologie veröffentlichte Untersuchung veranlasst mich zu folgender Bemerkung.

Herr Dr. Bongers findet, dass, wenn einem Hunde subcutan oder mittelst Klysma gewisse Alkaloide, aromatische Substanzen oder Körper der Fettreihe bei-

[1]) Pflüger's Archiv 54, 420.

gebracht werden, diese nach einiger Zeit in den Magen hinein ausgeschieden werden. Hinsichtlich des Zustandekommens dieser Ausscheidung ist Bongers der Ansicht, dass die unter die Haut gespritzten, oder als Klysma verabreichten Stoffe „zunächst durch Resorption in den Blutkreislauf gelangen, durch dessen Vermittelung die Magenwände erreichen und nun durch die Magendrüsen, oder auf dem Wege der sogenannten Transsudation, in das Mageninnere ausgeschieden werden". Mit Rücksicht auf eine Mittheilung von Grützner, welcher nachgewiesen hat, dass mit gleichen Theilen 0.6 proc. Kochsalzlösung angerührte, pulverförmige Substanzen (Kohlenpulver, Stärkekörner, Senfkörner, feingeschnittene Haare) bei Menschen und bei Thieren nach Einbringung in das Rectum durch antiperistaltische Bewegung des Darmes bis in den Magen gelangen, ist Bongers der Ansicht, dass es sich schwer feststellen lassen würde, ob ein derartiger Vorgang bei seinen Versuchen mitgewirkt habe und hält ihn übrigens für unwahrscheinlich. Dem gegenüber will ich bemerken, dass fremde Stoffe, die nicht einmal subcutan oder per Klysma, sondern direct in den Magen hineingebracht werden, doch nicht in den Magensaft übergehen.

Nach den Angaben von Leineweber, Blanchier und Bochefontaine, Kandidoff und Bongers geht Salicylsäure nach subcutaner Einspritzung in den Mageninhalt über. Mein oesophagotomirter Magenfistelhund erhielt durch die Magenfistel mit fein zerhacktem Fleisch 5 g salicylsaures Natrium. 18 Stunden später wurde der übrigens leere Magen mit lauwarmer, physiologischer Kochsalzlösung einmal ausgewaschen, worauf behufs Gewinnung des Magensaftes er die Scheinfütterung bekam, wobei, wie bekannt, die Fleischstücke wieder zum Halse herausfielen. Nur etwa die ersten 30 ccm des Saftes waren farblos und klar; dem später secernirten Safte war Galle beigemischt. Nach einer Stunde wurde die Scheinfütterung unterbrochen. Die ersten klaren 30 ccm, sowie der später secernirte, gallehaltige Saft, etwa 60 ccm, wurden jeder für sich mit Soda neutralisirt, auf dem Wasserbade verdunstet und mit Alkohol extrahirt. Die Probe ohne Galle, nach Verdunsten des Alkohols, in einigen Cubikcentimetern Wasser gelöst, gab mit einigen Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung versetzt, nur eine röthliche Färbung, von Sulfocyansäure des Magensaftes herrührend; dagegen gab der gallehaltige Saft eine intensive Violettfärbung. Auch in den nächsten Tagen war dem secernirten Magensafte immer Galle beigemischt, vielleicht die Folge der verabreichten Salicylsäure.

Etwa zwei Wochen später, als der Hund sich vollkommen erholte, habe ich den Versuch gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Suck wiederholt. Um mehr Saft zu bekommen, liessen wir den Hund einen Tag vor der Scheinfütterung hungern. Um 7 Uhr Morgens erhielt der Hund wiederum eine Lösung von 5 g salicylsauren Natriums mit 600 ccm Milch in den Magen. $8^1/_2$ Stunden später wurde der Magen mit lauwarmem Salzwasser einmal ausgewaschen und die Scheinfütterung begonnen. Auch jetzt waren die ersten 60 ccm des von etwas Schleim filtrirten Magensaftes wasserklar und farblos; dem später secernirten war Galle beigemischt. Der klare Saft enthielt keine Salicylsäure, der gallehaltige gab mit Eisenchlorid starke, violette Färbung. Nach den Versuchen des Herrn Suck [1]) ist Salicylsäure, innerlich ver-

[1]) Die Versuche des Herrn Suck sind in einer, der medicinischen Facultät in Dorpat als Doctordissertation vorgelegten Arbeit ausführlich mitgetheilt. Siehe unten.

abreicht, oder nach subcutaner Injection, im Blute und den meisten Organen leicht nachzuweisen. In beiden Fällen, zur Zeit, wo der Saft des Hundes gesammelt wurde, enthielt sein Harn reichlich Salicylsäure.

Hätten wir den Magensaft nicht rein gesammelt und den reinen von dem gallehaltigen getrennt, so hätten wir in dem ausgespülten Mageninhalt — ein Verfahren, das von allen Experimentatoren angewendet wurde — sicher Salicylsäure gefunden. Nur dann ist der Uebergang eines fremden Stoffes in den Magensaft als nachgewiesen zu betrachten, wenn wirklich reiner Magensaft, ohne jede andere Beimischung, untersucht wurde.

Ueber das Verhalten und die topographische Vertheilung einiger aromatischen Verbindungen im Thierkörper

von

O. Suck.

Inaug.-Dissert. Dorpat. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. untersuchte im pharmakologischen Sinne folgende Verbindungen:

1. Anilidmethylsalicylsäure, $C_6H_5-N<{CH_3 \atop CO-C_6H_4(OH)}$. Dieser Körper wurde von Prof. Nencki erhalten, er stellt sich als weisses krystallinisches Pulver dar, rhombische Schuppen, in kaltem Wasser sehr schwer löslich, leichter löslich in heissem Wasser, Alkohol und Aether. Lässt sich leicht aus Kalilaugelösungen umkrystallisiren. Giebt mit $FeCl_3$ Salicylsäurereaction. Diese Verbindung zeigt keinen schädlichen Einfluss auf den Organismus sogar in Dosen von 5 bis 10 g pro die (bei einem Hunde von 34 kg Körpergewicht). Nach Einnahme dieses Körpers giebt der Harn eine deutliche violette Färbung mit $FeCl_3$; es vergrössert sich hierbei die Menge der Aetherschwefelsäuren, so dass sie sich zu den Gesammtschwefelsäuren wie 1 : 4 verhalten. Es gelang jedoch dem Verf. nicht, trotz Anwendung der verschiedensten Methoden, diesen Körper aus dem Harn auszuscheiden. Einen Einfluss auf Temperaturerniedrigung des Körpers, welchen man erwarten konnte, verursacht diese Verbindung nicht.

2. α-Oxyuvitinsäure, $C_6H_2(OH)(CH_3)(COOH)_2$ [1], geht ohne Aenderung in den Harn über; es vergrössert sich die Menge von Aetherschwefelsäuren, der Harn giebt violette Färbung mit $FeCl_3$. Das Präparat in Dosen von 4 g pro die erwies sich als starkes Diureticum.

3. Aethyläther der α-Oxyuvitinsäure,

$$C_6H_2(OH)(CH_3)(COOH)(COOC_2H_5),$$

wird aus dem Harn in verseifter Form als α-Oxyuvitinsäure ausgeschieden; vergrössert in sehr geringem Maasse die Menge der Aetherschwefelsäuren, paart sich

[1] Beilstein, Handbuch der Organischen Chemie **3**, 1233 (1888).

ebenfalls mit Glycuronsäure nicht. Dosen von 10 g pro die für einen Hund zeigten keinen schädlichen Einfluss; auf Pflanzenfresser wirkt es dagegen toxisch. Auch diese beiden letzten Körper wirken auf Erniedrigung der Körpertemperatur nicht ein.

Im zweiten Theil seiner Arbeit untersuchte Verf. die Vertheilung dieser Körper im Organismus, fügte hier Salicylsäure hinzu und legte auf dieselbe das Hauptgewicht. Zu den Versuchen dienten Kaninchen, Katzen und Hunde; sie erhielten Salicylsäure oder salicylsaures Natrium per os oder subcutan in Mengen von 0.5 bis 1.5 g pro 1 kg Körpergewicht. Nach etwa vier Stunden tödtete man das Thier, indem man das Blut durch die Art. carotis herausliess, und wusch die Leiche aus durch die Aorta ascendens und descendens mit einer Lösung von 2 Proc. Rohrzucker und 0.6 Proc. Kochsalz so lange, bis die durch die Vena cava herausfliessende Flüssigkeit vollständig farblos wurde. Einzelne Organe wurden mit Sand zerrieben und unmittelbar mit Aether extrahirt; manchmal wurden sie vorher mit Salzsäure angesäuert. Aether wurde abgegossen, abgedampft, nach Befreiung von HCl mit $FeCl_3$ behandelt. Es zeigte sich, dass man die Anwesenheit von Salicylsäure in sämmtlichen Organen constatiren konnte. Das Gehirn und Pankreas müssen vorher angesäuert werden, damit nachher eine Färbung mit $FeCl_3$ beobachtet werden kann; im Blute gelang es ebenfalls nicht immer, die Anwesenheit von Salicylsäure ohne vorheriges Ansäuern zu constatiren. In den Magensaft, wie oben in der Arbeit von Prof. Nencki angegeben, geht die Salicylsäure nicht über.

Ueber den Chlorgehalt des Blutes und der Organe bei den pathologischen Processen im Thierorganismus

von

J. Wyrzikowsky.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Gegenwärtige Dissertation ist einigermaassen eine Fortsetzung der Untersuchungen, die Prof. Nencki über die physiologische Bedeutung des Chlors und der Halogene ausführte und die im Jahre 1894 unter dem Titel „Studien über das Chlor und die Halogene im Thierkörper“ [1]) veröffentlicht wurden. Ebenso wie vorher wurden zu den Versuchen Hunde benutzt; man rief bei ihnen pathologische Zustände hervor, tödtete sie dann durch vollständiges Herauslassen des Blutes, wonach die Chlormenge in den einzelnen Organen bestimmt wurde; bei den Bestimmungen wurde dieselbe Methode, wie auch vorhin, angewendet.

Die erste Versuchsreihe umfasst Thiere, denen in der Nahrung kein Chlor gegeben wurde (Chlorhunger). Man nährte sie im Laufe von einigen Wochen vor der Operation mit Fleisch, das eine längere Zeit in immer neuen Mengen von destillirtem

---

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **34**, 313. — Dieser Band S. 472.

Wasser gekocht wurde; das Fleisch enthielt kaum Spuren von Chlor; zu dieser Nahrung fügte man etwa 1 Proc. phosphorsaures Natrium hinzu. Die Analysen ergaben in den Organen und im Blut dieser Thiere Chlormengen, die sich wenig von der Norm unterscheiden; im Harn dagegen fand man kaum Spuren von Chlor. Dasselbe Resultat wurde ebenfalls bei einem Hunde erhalten, der im Laufe von drei Tagen vor der Operation vollständig ausgehungert wurde. Aus diesen Resultaten kann der Schluss gezogen werden, dass der Organismus die Chlormenge auf einem gewissen constanten Niveau zu erhalten sucht; es erfolgt wahrscheinlich aus dem Darme eine wiederholte Resorption in das Blut hinein, obwohl das Chlor im Blute zum Theil vielleicht aus der Zersetzung des organisirten Eiweisses herstammt, das zur Nahrung des Thieres während seines Hungerns verbraucht wird.

Die zweite Versuchsreihe wurde an Hunden ausgeführt, bei denen man künstliche Nephritis durch Unterhauteinspritzungen von 5 Proc. wässeriger Lösung von Aloin hervorrief. Auch diese Versuchsreihe ergab keine deutlichen Abweichungen von der Norm; man beobachtete eine gewisse Verringerung der Chlormenge im Blute und deren Vergrösserung in denjenigen Organen und Stellen, wo sich Anschwellungen und Abscesse gebildet hatten.

Die dritte Versuchsreihe wurde an mit Diphtherie angesteckten Hunden ausgeführt; die Krankheit der Thiere war, wie gewöhnlich, mit Temperaturerhöhung verbunden. Hier fand man in vielen Organen und im Blute eine deutliche Vergrösserung der Chlormenge (das Blut gab Zahlen 0.39, 0.30 und 0.31 Proc., bei der Norm 0.27 Proc.). Verhältnissmässig geringere Mengen als normal fand man in den Knochen dieser Thiere. Im Harn beobachtete man während der Krankheit eine Verminderung der ausgeschiedenen Chlormenge. Indem Verf. die Zurückhaltung von Chlor im Organismus bei Fieberprocessen constatirt, erklärt er die Ursache dieser Thatsache nicht.

Ueber das Vorkommen von Harnstoff im Muskel der Säugethiere

von

M. Nencki und **A. Kowarski.**

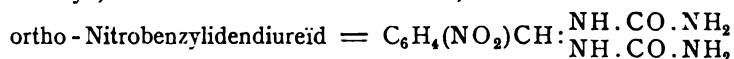
Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **36**, 395. — Ausführlich erschienen als Inaug.-Dissert., Petersburg, von Herrn Kowarski.

Die Angaben über das Vorkommen des Harnstoffes im Muskel der Säugethiere sind seit vielen Jahren wie die Nachrichten über die Seeschlange. Im Jahre 1878 bestimmte Picard [1]) die Mengen Stickstoff, welche aus den Organextracten durch NaOBr entwickelt werden und berechnet aus dem gefundenen Stickstoff den Harnstoffgehalt. Danach findet er, dass Muskel den grössten Harnstoffgehalt hat. Die

[1]) Maly's Jahresber. **8**, 261.

Angabe Demant's [1]), welcher Harnstoff als salpetersauren Harnstoff aus Pferdefleisch dargestellt haben wollte, sowie die anderen positiven Angaben, hat sein Lehrer Hoppe-Seyler [2]) später dementirt. Im Jahre 1884 bestimmte Haycraft [3]) den Harnstoffgehalt im Muskel bei Ruhe und Arbeit, nachdem er sich überzeugte, dass Harnstoff im Muskel vorhanden ist; im Jahre 1889 finden Gréhant und Quinquaud [4]) in 100 g Muskel 37.8 resp. 107.3 mg Harnstoff, wiederum aus dem entwickelten Stickstoff in dem Fleischauszuge berechnet.

Anlässlich der Untersuchung über die Harnstoffbildung bei den Säugethieren wollten wir uns in dieser Frage Gewissheit verschaffen und haben in einem Versuche 2.5 kg frische Hundemuskel nach dem Verfahren von v. Schröder auf Harnstoff verarbeitet, ohne eine Spur Harnstoff isoliren zu können. In einem zweiten Versuche wurde der wässerige Auszug von 1 kg Hundemuskel mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure vollkommen ausgefällt. Nach Entfernung der überschüssigen Phosphorwolframsäure mit pulverigem Kalk wurde das alkalische Filtrat auf ein Liter gebracht und davon in zwei Proben je 50 resp. 100 g der Lösung mit 10 g krystallisirter Phosphorsäure eingedampft, sodann drei Stunden auf 240 bis 270° erhitzt und durch Destillation mit Natronlauge das entstandene Ammoniak bestimmt. Wir erhielten für 100 ccm der Lösung 72.6 resp. 73 mg Ammoniak. Die restirenden 850 ccm der Lösung wurden mit oxalsaurem Ammoniak genau ausgefällt, von Kalkoxalat filtrirt, zur Trockne auf dem Wasserbade verdunstet und wiederholt mit absolutem Alkohol ausgezogen. Der alkoholische Auszug, zur Trockne verdunstet, wurde von Neuem mit absolutem Alkohol und etwas Aether in der Kälte aufgenommen, von ungelöstem Salmiak filtrirt und von Neuem verdunstet. Aus dem syrupösen Rückstande, der die Kreatininreactionen gab, suchten wir nach dem von Lüdy [5]) ausgearbeiteten Verfahren Harnstoff nachzuweisen. Das Verfahren beruht auf dem Principe, dass eine alkoholische Harnstofflösung mit alkoholischer Lösung von ortho-Nitrobenzaldehyd, auf dem Wasserbade verdunstet, in

$$\text{ortho-Nitrobenzylidendiureïd} = C_6H_4(NO_2)CH{:}\begin{matrix}NH.CO.NH_2\\NH.CO.NH_2\end{matrix}$$

verwandelt wird. Das ortho-Nitrobenzylidendiureïd ist ein weisslicher, krystallinischer Körper, der bei 200° schmilzt, in Wasser und Alkohol sehr wenig löslich ist und durch Erwärmen mit verdünnten Mineralsäuren leicht in Harnstoff und ortho-Nitrobenzaldehyd zerfällt. Der letztere Körper, in alkoholischer Lösung mit Phenylhydrazin versetzt, färbt sich sofort schön roth, indem er das in scharlachrothen, prismatischen Nadeln krystallisirende Hydrazon $= C_6H_4(NO_2)CH{:}N.NH.C_6H_5$ giebt. Zum Nachweis des Harnstoffs wird der alkoholische Auszug des syrupartigen Verdampfungsrückstandes, aus der eventuell Harnstoff enthaltenden Flüssigkeit mit einer alkoholischen Lösung von ortho-Nitrobenzaldehyd versetzt. Nitrobenzaldehyd muss in solcher Quantität vorhanden sein, dass aller Harnstoff, der muthmaasslich

[1]) Maly's Jahresber. **10**, 351.
[2]) Dessen Lehrbuch der physiologischen Chemie, S. 644.
[3]) Maly's Jahresber. **14**, 539.
[4]) Compt. rend. **108**, 1092.
[5]) Wiener Monatshefte f. Chemie **10**, 295. — Dieser Band S. 138.

angenommen werden darf, in Reaction treten kann. Die alkoholische Lösung wird auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, hernach mit Alkohol übergossen, kurze Zeit erwärmt und der Alkohol abgegossen. Dies wird zwei- bis dreimal wiederholt, d. h. so lange, bis alle in Alkohol löslichen Stoffe wieder entfernt sind und der Alkohol mit Phenylhydrazinlösung keine Farbenreaction mehr zeigt, also auch überschüssig zugesetztes Nitrobenzaldehyd verschwunden ist. War Harnstoff vorhanden, so hinterbleibt das Condensationsproduct — Nitrobenzylidendiureïd — als gelbweisser, pulveriger Körper, der sehr intensiv an den Wänden der Porcellanschale haftet und in Folge dessen auch bei minimalen Mengen sehr leicht wahrgenommen werden kann. Nunmehr wird der Rückstand mit wenig verdünnter Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin übergossen, mit etwa 5 bis 10 Tropfen einer 10 proc. Schwefelsäure versetzt und zum Sieden erhitzt. — War der Rückstand wirklich Nitrobenzylidendiureïd, so wird sich die Flüssigkeit sogleich röthen, in Folge Bildung des schon erwähnten, farbigen Körpers — des Phenylhydrazons des ortho-Nitrobenzaldehyds. Mittelst dieser Reaction können 5 mg Harnstoff noch gut nachgewiesen werden, ja sogar in einer Lösung, die nur 1 mg Harnstoff enthielt, war dessen Anwesenheit noch zu constatiren.

Es gelang aber nicht, auch mittelst dieser Reaction aus dem wässerigen Auszuge von 850 g Hundemuskel Harnstoff nachzuweisen.

Man könnte immerhin noch einwenden, der Harnstoffgehalt sei so gering, dass bei der von uns verwendeten Muskelmenge der Nachweis nicht möglich sei. Wir haben daher 450 g Liebig'schen Fleischextractes in kaltem Wasser gelöst und mit 10 Proc. Phosphorwolframsäure, der $^1/_{10}$ ihres Volumens Salzsäure zugesetzt war, vollkommen ausgefällt. Es waren dazu über 2.5 kg krystallisirter Phosphorwolframsäure nöthig. Aus den Versuchen von Gumlich[1]) und Schöndorff[2]) wissen wir, dass Harnstoff in 1- bis 3 proc. Lösung durch Phosphorwolframsäure auch dann nicht gefällt wird, wenn die Lösung Ammoniaksalze und andere stickstoffhaltige Bestandtheile des Harns enthält. — Der Phosphorwolframsäureniederschlag wurde abfiltrirt, ausgewaschen, durch pulverigen Kalk alkalisch gemacht, filtrirt und aus dem Filtrate der Kalk durch oxalsaures Ammon ausgefällt. Das Filtrat vom Kalkoxalat wurde auf dem Wasserbade verdunstet und zur Trennung vom ausgeschiedenen Salmiak mit absolutem Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug von Neuem verdunstet und mit Alkoholäther behandelt, wobei noch etwas Salmiak ungelöst zurückblieb. Jetzt wurde der nach Verdunsten des Alkoholäthers hinterbliebene syrupöse Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit Zinkoxyd zum Sieden erhitzt, wobei ziemlich viel Ammoniak entwich, von dem noch gelösten Salmiak herrührend. Aus dem Filtrate von überschüssigem Zinkoxyd schieden sich nach dem Verdunsten etwa auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens Krystalldrusen ab, welche dem Aussehen nach Kreatininchlorzink waren. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit etwas Wasser nachgewaschen und ergaben nach dem Trocknen folgende Zahlen: 0.4931 g der Substanz, in schwach salzsaurem Wasser gelöst, und in der Siedhitze mit Soda

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie **17**, 13.
[2]) Pflüger's Archiv **54**, 426.

im Ueberschuss gefällt, gaben 0.1084 g ZnO = 17.64 Proc. Zn. Die Formel $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$ verlangt 17.95 Proc. Zn.

Das Filtrat von dem ausgeschiedenen Kreatinchlorzink wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, vom Schwefelzink abfiltrirt, durch einen Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreit und mit Aether wiederholt extrahirt. In den Aether ging in reichlichen Mengen rechts-Milchsäure über, welche, in das Zinksalz verwandelt, durch Krystallwasser- und Zinkbestimmung identificirt wurde. Die von Milchsäure befreite Lösung wurde mit Barytwasser alkalisch gemacht, das überschüssige Baryum durch Kohlensäure entfernt, filtrirt und auf dem Wasserbade verdunstet. Der syrupöse Rückstand enthielt noch reichlich Kreatin und Kreatinin, die theilweise auskrystallisirten. Die Mutterlauge der Krystalle gab jedoch, sowohl mit Quecksilberchlorid als auch mit Pikrinsäure, krystallinische Niederschläge der entsprechenden Kreatininverbindung. Nach möglichster Entfernung des Kreatins und Kreatinins extrahirten wir die syrupösen Rückstände mit Alkohol und Aether und suchten in den alkoholischen Auszügen Harnstoff nachzuweisen. Die Proben mit ortho-Nitrobenzaldehyd fielen negativ aus. Wurde der alkoholische Rückstand in Wasser gelöst und mit Quecksilbernitrat versetzt, so entstand ein geringer weisser Niederschlag, der sich im überschüssigen Quecksilbernitrat wieder löste und der sicher nicht die Harnstoffquecksilberverbindung sein konnte, da dieser Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzt, dann nach Verjagen des Schwefelwasserstoffs durch die Luft, Behandeln mit Baryt und Kohlensäure, ein Filtrat gab, das mit einer Lösung von Diphenylamin in Schwefelsäure nicht die geringste Blaufärbung, d. h. Reaction auf Salpetersäure gab, während alle die Harnstoffverbindungen mit Quecksilbernitrat Salpetersäure in ihrem Molekül enthalten. Wir kommen daher zu dem Schluss, dass die Muskeln der Säugethiere keine, mit unseren doch sehr empfindlichen Reagentien nachweisbare Harnstoffmenge enthalten.

Nach den Bestimmungen von Hofmeister[1]) wird Kreatin in verdünnter, mit Salzsäure versetzter Lösung durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt. Kreatinin giebt mit Phosphorwolframsäure ein krystallinisches Salz schon in Verdünnungen von 1 : 12 000. Da wir wegen der grossen Masse des Niederschlages in den Filtraten sammt Waschwasser mehr als 15 Liter Flüssigkeit hatten, so war jedenfalls ein Theil des von uns gefundenen Kreatinins schon als solches im Fleischextract vorhanden; ein anderer dürfte von dem gelösten Kreatin herrühren. Die syrupösen, von uns erhaltenen kreatininhaltigen Rückstände enthalten sicher noch andere stickstoffhaltige Körper, da die Menge dieses Syrups ganz erheblich ist. Die kürzlich publicirten Untersuchungen von M. Siegfried[2]) über Fleischsäure und die von F. Haiser[3]) über Inosinsäure bringen uns ganz neue Gesichtspunkte über den Stoffwechsel des Muskels und dürften fortgesetzte Untersuchungen der Extractivstoffe des Fleisches noch manche interessante Thatsache nach dieser Richtung hin bringen. Xanthinbasen, oder richtiger durch ammoniakalisches Silber fällbare Substanzen, enthält das Filtrat von Phosphorwolframsäureniederschlag nicht. Das nach Ausfällen

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie **5**, 73.

[2]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1894. Physiol. Abth. S. 401.

[3]) Wiener Monatshefte f. Chemie **16**, 190 (1895).

mit Phosphorwolframsäure aus dem Filtrate durch Erhitzen mit Phosphorsäure auf 240 bis 270° erhaltene Ammoniak dürfte hauptsächlich vom Kreatin des Fleisches herstammen. Wenn wirklich Harnstoff im Muskel der Säugethiere vorhanden wäre, so sehen wir nicht ein, warum er nicht daraus darstellbar sein sollte, da er doch z. B. aus dem Muskel der Rochen und Haie nach gleichen Methoden leicht dargestellt werden kann. Ebenso haben wir schon aus 100 g Hundeblut, nach vorausgegangener Fällung mit Phosphorwolframsäure, Harnstoff als ortho-Nitrobenzylidendiureïd dargestellt. Der aus der alkoholischen Lösung erhaltene Körper schmolz bei 203° und gab nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Zusatz von Phenylhydrazin das Phenylhydrazon des ortho-Nitrobenzaldehyds in Form von rothen Krystallnadeln.

Zur Synthese der Oxyaldehyde mit aromatischen Basen

von

J. Arenson.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. hat folgende Verbindungen untersucht. Furäthylenchinaldin, $C_9H_6N-CH=CH-C_4H_3O$ (zuerst von Srpek, Ber. **20**, 2044 dargestellt), durch Einwirkung von Furfurol und Chinaldin bei Gegenwart von Zinkchlorid. Umkrystallisirt aus Benzin oder Petroläther (80 Proc. der theoretischen Ausbeute): schneeweisse Nadeln, nicht löslich in Wasser, leichter in heissem Benzin, sehr leicht in Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol; Schmp. 60°. Diese Base giebt mit Säuren krystallinische Producte. Salzsaures Salz; gelbe Nadeln; schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heissem Wasser, Alkohol, Essigsäure; zersetzlich bei 180°. Platindoppelsalz, $(C_{15}H_{11}NOHCl)_2PtCl_4 + 2H_2O$; verliert sein Krystallwasser bei 105°. Bichromat $(C_{15}H_{11}NO)_2H_2Cr_2O_7$; gelbes, krystallinisches Pulver, schwer löslich in Wasser.

Piperonäthylenchinaldin, $C_9H_6N-CH=CH-C_7H_5O_2$, dargestellt von Prof. Nencki aus Piperonal und Chinaldin (Ber. **27**, 1977. — Dieser Band S. 456). Verf. hat folgende Verbindungen dieses Körpers untersucht. Salzsaures Salz, $C_{18}H_{13}NO_2HCl$, umkrystallisirt aus verdünnter Säure; gelblichrothe Nadeln, die bei 224° schmelzen. Bichromat, $(C_{18}H_{13}NO_2)_2H_2Cr_2O_7$; rother krystallinischer Niederschlag, schwer löslich in Wasser und Alkohol. Pikrat, $C_{18}H_{13}NO_2 . C_6H_2(NO_2)_3OH$; glänzende rothe Nadeln; schwer löslich in kaltem Alkohol, leichter in heissem. Platindoppelsalz, $(C_{18}H_{13}NO_2HCl)_2PtCl_4$; hellrother krystallinischer Niederschlag, unlöslich in Wasser, schwer löslich in Alkohol. Durch Einwirkung des metallischen Natriums in alkoholischer Lösung hat Verf. aus dieser Base eine Hydroverbindung dargestellt. Salzsaures Salz dieser Verbindung, $C_{18}H_{19}NO_2 . HCl$, bildet weisse Tafeln, leicht veränderlich an der Luft, die bei 181 bis 182° schmelzen.

Reine Hydrobase krystallisirt in seideglänzenden weissen Schuppen; nicht löslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol und Aether; Schmp. 70°.

Piperonäthylenpicolin, $C_5H_4N—CH{=}CH—C_7H_5O_2$. Verf. war der erste, welcher diesen Körper dargestellt hat. 7.5 g α-Picolin, 5 g Piperonal und 5 g Zinkchlorid wurden auf dem Sandbade während 30 bis 45 Minuten bei 170 bis 180° erwärmt. Erhaltene Schmelze mit 10 proc. Natronlauge behandelt und mehrmals mit Aether extrahirt. Nach dem Abdampfen des Aethers durch Zusatz von Salzsäure fällt das Product als Hydrochlorid, $C_{14}H_{11}NO_2.HCl$, lässt sich aus heissem Wasser umkrystallisiren; gelbe glänzende Nadeln, schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heissem Wasser und Alkohol; zersetzt bei 202°, ohne zu schmelzen. Freie Base $C_{14}H_{11}NO_2$ bildet prismatische weisse Krystalle, die bei 104° schmelzen. Platindoppelsalz, $(C_{14}H_{11}NO_2.HCl)_2PtCl_4$, gelber, krystallinischer Niederschlag; Bichromat, $(C_{14}H_{11}NO_2)_2H_2Cr_2O_7$, gelbe Krystalle, schwer löslich in Wasser und Alkohol; Pikrat, $C_{14}H_{11}NO_2—C_6H_2(NO_2)_3OH$, analoge Eigenschaften wie das vorige.

Ausserdem hat Verf. die Wirkung der Salpetersäure auf Opianylchinaldin, $C_{20}H_{17}NO_4$ (siehe diesen Band S. 456), untersucht und das salpetersaure Salz des Nitropianylchinaldins, $C_{20}H_{16}(NO_2)NO_4.HNO_3$, dargestellt.

Ueber den Einfluss des constanten elektrischen Stromes auf Tetanotoxine

von

A. Zajączkowski.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Dr. G. Smirnow begann noch im Jahre 1892 auf Rath von Prof. Nencki in dessen Laboratorium Untersuchungen darüber, ob es nicht möglich wäre, mittelst Oxydirungs- oder Reductionsprocessen in Toxinen Producte herzustellen, die den heilenden Wirkungen des Serums immunisirter Thiere, d. h. Antitoxinen, entsprächen. Da es nicht gelang, mit Hülfe von chemischen Reagentien zufriedenstellende Resultate zu erhalten, so wandte man sich an die Elektrolyse. Dr. Smirnow veröffentlichte seine Arbeit in der Berliner klinischen Wochenschrift Nr. 30 (1894). Seine Versuche erwähnte auch Prof. Nencki in der Sitzung der Berliner medicinischen Gesellschaft am 25. Juli (1894)[1]. Diese Untersuchungen riefen gewisse Einwände seitens Prof. E. Behring hervor, dem Prof. Nencki in der Berliner klinischen Wochenschrift antwortete; Nr. 45 (1894). Dr. Smirnow führte dann seine Arbeiten, die er hauptsächlich der Diphtherie widmete, weiter aus, Dr. Zajączkowski studirte auf den Vorschlag von Prof. Nencki den Einfluss der Elektrolyse auf Tetanotoxine.

[1]) Referat hierüber in der Deutschen med. Wochenschrift Nr. 32 (1894).

Die Schlussfolgerungen, die der Verf. aus seinen Untersuchungen gezogen hat, lassen sich wie folgt zusammenfassen. Starke Ströme vernichten vollständig das Toxin und bilden eine für den Organismus ganz indifferente Flüssigkeit. Bei schwächeren Strömen (50 Milliampère) gelingt es zuweilen, Flüssigkeiten zu erhalten, die nach mehrmaligem Einspritzen unter die Haut kranker Thiere Heilung verursachen, während die Controlthiere zu Grunde gehen. Es bezieht sich dies ausschliesslich auf die an der Anode gesammelte Flüssigkeit. Jedenfalls fand Verf. eine deutliche Hinweisung auf das Existiren in diesen Lösungen von Körpern, die die Eigenschaften des Antitoxins besitzen, nicht.

Das p-Chlorphenol als locales Heilmittel für Kehlkopftuberculose und als Desinficiens für Tuberkelbacillen und tuberculösen Auswurf

von

A. Spengler.

Arch. des sciences biolog. **4**, 1. — Nach dem Referate von Dr. B. Proskauer abgedruckt. Chem. Centralbl. **66**, II, 1169.

Das p-Chlorphenol in glycerinhaltigen Lösungen bei einem Gehalt derselben von 10 Proc. oder in reinem Zustande begrenzt das Umsichgreifen tieferer oder oberflächlicher tuberculöser Ulcerationen, ohne dass man reizende Nebenwirkung beobachtet; es wirkt ferner bei allen tuberculösen Affectionen anästhesirend. Die Anästhesie hält einige Tage an, im Gegensatz zur kurzen Dauer der Cocaïnwirkung. Zweiprocentige wässerige Lösungen von p-Chlorphenol tödteten Reinculturen von Tuberkelbacillen nach fünf Minuten langer Einwirkung, tuberculöse Sputa sind jedoch schwerer damit zu desinficiren, da die Desinfectionslösung schwierig in die schleimigen Massen eindringt.

Ueber die Filtration der physiologisch activen Eiweissstoffe

von

S. Dzierzgowski.

Arch. des sciences biolog. **4**, 225. — Nach dem Referate von Dr. J. Pruszyński, Maly's Jahresber. **25**, 652.

Verf. untersuchte die Veränderungen, welchen die verschiedenen Eiweissstoffe (sowie Magen-, Pankreassaft, Abrinlösungen, Diphtheritis- und Tetanustoxine, antidiphtheritisches Heilserum) unter dem Einflusse des Chamberland-Pasteur'schen Filters (von 30 ccm Inhalt und 12 mm Wanddicke) unterworfen sind. Um fest-

zustellen, in welchem Momente der Filtration die Eigenschaften der angewandten Flüssigkeit sich vermindern, wurde ihre Wirkungsfähigkeit nach jeder Filtration bestimmt, und zwar die Wirkungsfähigkeit des Magen- und Pankreassaftes nach der Methode von Mett, die der Toxine und Antitoxine nach der Lebensdauer der Thiere, welchen diese Substanzen vor und nach der Filtration eingespritzt wurden. Auf Grund dieser Versuche gelangt der Verf. zu folgenden Schlüssen: 1. Die Wirkungsfähigkeit des Magensaftes wird nur bei Beginn der Filtration vermindert, weitere Filtration dagegen bleibt ohne Einfluss. 2. Je mehr Poren das Filter enthält, desto mehr verlieren die Filtrate an ihrer Wirkung. 3. Wenn während der Filtration Luft durch das Filter durchgeleitet wird, so vermindert dies auch die Wirkung des Filtrates. Dasselbe betrifft den Pankreassaft, wo sich das amylolytische Ferment empfindlicher als das Trypsin erweist. Das Tetanustoxin wurde angewandt in unverdünntem Zustande, mit Bouillon (1:100) oder mit Wasser (1:100) vermischt, das Abrin in einer starken Lösung oder mit 0.5 procentiger Carbolsäure resp. physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Dabei zeigte sich, dass die verdünnten Lösungen mehr an ihrer Wirkungskraft verlieren, als diejenigen, die mit Wasser nicht verdünnt waren. Dagegen verliert das antidiphtheritische Heilserum nichts an seiner Kraft, sondern scheint sogar zu gewinnen. Die Ursache der Veränderung der eiweisshaltigen Flüssigkeiten während der Filtration schreibt der Verf. der Luft in den Poren, einer condensirenden und katalytischen Eigenschaft der porösen Körper, und der Absorption seitens der Oberfläche der Poren zu.

Ueber die Eigenschaften des Antidiphtherieserums Behring's

von

G. Gorjansky.

Врачъ (1895), Nr. 7. — Nach dem Referate aus Petersburger Medicinische Wochenschrift. Beilage Nr. 5.

Verf. injicirte Meerschweinchen Diphtherietoxin unter die Haut und gleich darauf eine der Quantität dieses entsprechende Menge Antitoxin. Die Thiere blieben natürlich gesund. Um die Widerstandsfähigkeit des Antitoxins gegen Kälte zu prüfen, setzte Verf. dieses einer Temperatur von -3^0 bis -16^0 Reaumur aus, injicirte dann gleichzeitig das Toxin und Antitoxin und fand, dass das einer fortgesetzten Kältewirkung ausgesetzte Serum in seiner Eigenschaft als Antitoxin Einbusse erleidet. Bei Zusatz von Methyl- und Aethylalkohol zu dem Serum erhält man einen Niederschlag, der die antidiphtheritischen Eigenschaften in viel schwächerem Maasse besitzt, das Filtrat büsst dieselben ganz ein. Das Antitoxin besitzt nicht die Eigenschaften der Diffusion und gehört vermuthlich zur Gruppe der Eiweisskörper. Das Toxin bleibt von der Kälteeinwirkung unbeeinflusst.

Zur Herstellung des Diphtherieheilserums

von

S. Dzierzgowski.

Врачъ (1895), Nr. 22. — Nach dem Referate aus Petersburger Medicinische Wochenschrift, Beilage Nr. 7.

In cylinderartige Gefässe, die zum Auffangen des entzogenen Blutes dienen, werden 2.5 ccm einer 20 proc. Kochsalzlösung zur Benetzung der Innenwände der Gefässe gespritzt, wodurch einem festen Anheften der Gerinnsel an den Wänden vorgebeugt wird. Oder man fügt in die zum Auffangen des Pferdeblutes bestimmten Gefässe eine 10 proc. Lösung von oxalsaurem Natron, so dass 1.0 oxalsaures Natron auf ein Liter Blut kommt. Die Heilkraft des Serums wird durch Hinzufügen des oxalsauren Natrons in keiner Weise modificirt. Der Faserstoff bleibt gelöst, weil das Calcium, welches mit der Oxalsäure eine unlösliche Verbindung eingeht, aus dem Plasma entfernt wird. Im Uebrigen wird der gebräuchliche Weg zur Gewinnung des Heilserums eingeschlagen. Das durch Zusatz von Carbolsäure trübe Serum wird filtrirt, trotzdem steht eine leichte opalescirende Trübung bei längerem Stehen oder bei fortgesetzter Einwirkung der Kälte wieder auf, was von keiner Bedeutung ist.

Ueber die Ursachen der Trübung des Diphtherieheilserums

von

S. Dzierzgowski.

Врачъ (1895), Nr. 51. — Nach dem Referate aus Petersburger Medicinische Wochenschrift (1896), Beilage Nr. 3.

Die Trübung hat ihren Grund in einer ungenügenden Ausscheidung des Fibrins, in dem verschiedenen gegenseitigen Verhältniss der fibrino-plastischen Substanzen im Blutplasma, oder in der Bildung von Gährungen bei längerer Conservirung. Als Kunstproduct ist die Trübung aufzufassen, wenn durch Zusatz von desinficirenden Substanzen die Löslichkeitsverhältnisse der Eiweisskörper und Fette modificirt, der Gehalt an freien Alkalien verändert, unlösliche Eiweisskörper gebildet werden. Zwecks näherer Untersuchung des Niederschlages wurden die Eiweisskörper mit Aether extrahirt, chemisch untersucht und der Trockenzustand bestimmt. Die Asche bestand aus phosphorsaurem Kalk, Chlornatrium und geringen Mengen essigsaurer Salze. Der Zusatz einer 0.5 proc. Carbolsäure vernichtet die ins Serum gelangten Bacterien (ausgenommen die widerstandsfähigsten, wie die Anthraxbacillen), der Zusatz von Campher tödtet nur einige Bacterien. Die eventuell schädliche Wirkung der zugesetzten Carbolsäure wird reichlich aufgewogen durch die Garantie, ein bacterienfreies Serum in der Hand zu haben.

Zur Lehre von der Virulenz der Cholerabacillen in Mischculturen

von

N. Maschewski.

Arch. des sciences biolog. 4, 145. — Inaug.-Dissert. — Referirt von den Herausgebern.

Obschon mit Sicherheit festgestellt worden ist, dass für die Erkrankung an asiatischer Cholera die Anwesenheit der Kommabacillen eine Conditio sine qua non bildet, beweist vorliegende Untersuchung dennoch, dass verschiedene Mikroorganismen, welche im Darmcanal des Menschen und der Pflanzenfresser vorkommen, und ausserdem solche, welche auf gewissen Früchten und Gemüsen saprophytisch leben, bei der Erkrankung an Cholera eine bei Weitem nicht untergeordnete Rolle spielen. Die Reihe der Mikroben, welche auf die Cholerabacillen verstärkend einwirken, ist eine mannigfaltige und nicht geringe. Es wurden in angegebener Richtung und zwar mit positivem Resultate folgende, im menschlichen Darme vorkommende Mikroorganismen untersucht: Bac. ilei Frey, Streptococcus ilei und Micrococcus ureae, alles Mikroben, welche an und für sich nur für Mäuse, nicht aber für Meerschweinchen pathogen sind. Weiter wurden drei Arten aus dem Darme von Pflanzenfressern und neun Arten, welche aus Aepfel- und Gurkenextracten isolirt worden waren, und welche für Thiere weder jede für sich allein, noch auch alle zusammen pathogen sind, untersucht. In Mischculturen mit dem Kommabacillus erwiesen auch diese Mikroben sich als pathogen, indem sie den Tod der Versuchsthiere hervorriefen.

Der Kommabacillus erwies sich in Mischculturen mit einzelnen Mikrobenarten, sowie mit dem ganzen Complex der auf Aepfeln und Gurken vorkommenden Mikroorganismen von der ersten bis zur fünften Generation als gegen Mäuse virulent, gegen Meerschweinchen aber nur in der ersten Generation.

Weiter konnte ermittelt werden, dass ein avirulenter Koch'scher Kommabacillus, welcher weder subcutan, noch intraperitoneal, sowie per os einverleibt irgend welche Wirkung auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen zeigte, jedoch, nachdem er in Mischculturen mit diesem oder jenem Saprophyten oder zusammen mit mehreren Arten, welche auf Gurken und Aepfeln vorkommen, cultivirt und dann wieder in Reincultur isolirt worden war, sogar bei subcutaner Application Thieren gegenüber eine stärkere Virulenz, welche ihm vordem nicht zukam, aufwies; dieses ist aus Versuchen an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen deutlich zu ersehen. Die Saprophyten aber bleiben, gleich wie vorher, auch nachdem sie mit dem Kommabacillus cultivirt worden sind, ohne pathogene Wirkung auf Thiere.

1896

Zur Frage über den Ort der Harnstoffbildung bei den Säugethieren

von

M. Nencki und **J. Pawlow.**

Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **38**, 215. — Arch. des sciences biolog. **5**, 163.

Dass in der Leber der Säugethiere aus kohlensaurem resp. carbaminsaurem Ammoniak Harnstoff gebildet wird, und dass das Ammoniak dazu der Leber hauptsächlich mit dem Pfortaderblute zugeführt wird, das sind erwiesene Thatsachen, welche früher oder später allgemein anerkannt werden müssen. Obgleich nun unsere Untersuchungen ergaben, dass nach Anlegung der Venenfistel und Ausschaltung der Leber die anderen Organe für die Dauer diese Function der Leber, d. h. die Bildung von Harnstoff aus carbaminsaurem Ammoniak zu compensiren nicht vermögen, und folglich die Mitwirkung der Leber hierbei für den Organismus eine Lebensfrage ist, so kommen wir doch am Schlusse unserer letzten Mittheilung hierüber zu dem Resultate, dass es voreilig wäre, die Harnstoffbildung ausschliesslich in die Leber zu verlegen.

Um uns Aufklärung darüber, ob in anderen Organen ausser der Leber, und woraus der Harnstoff entsteht, zu verschaffen, haben wir im vergangenen Jahre in Fortsetzung unserer Untersuchungen bei gesunden und reichlich mit Fleisch gefütterten Hunden die Venenfistel angelegt, hierauf die Leber möglichst vollständig exstirpirt und im Blute und Harne vor und nach der Operation den Gesammtstickstoff, Harnstoff und Ammoniak bestimmt. Wenn der Harnstoff ausschliesslich in der Leber gebildet wird, so müsste nach der Ausschaltung dieses Organes und Ueberleitung des Pfortaderblutes direct in den grossen Kreislauf zu einer Zeit, wo die Verdauung im vollen Gange ist, im Blute und im Harne nach der Operation das Ammoniak bedeutend erhöht, und der Harnstoff vermindert sein. Zwei in dieser Weise operirte Hunde ergaben uns folgendes Resultat:

I. Versuch. Hund, 38.4 kg schwer, erhält vor der Operation eine Woche lang täglich 1.2 kg Fleisch und nach Belieben Hafersuppe. Der an den zwei letzten Tagen gelassene Harn enthält 3.8 resp. 4.3 Proc. Harnstoff. Am Tage vor der Operation erhält der Hund erst Abends 10 h das Fleisch (1.2 kg). Am 24. Mai Morgens 6 h erhält er Hafersuppe. Um 10 h werden zunächst zur Untersuchung aus einer kleinen Arterie am Schenkel 100 ccm Blut entnommen, hierauf Venenfisteloperation. Nach Vernähung der Venen wird aus der Blase durch Punction der ganze Harn entleert. Seine Menge ist = 470 ccm, spec. Gew. 1.025, Reaction schwach sauer. Jetzt wird die Leber in einzelnen Lappen abgetragen und die am Hilus und an den Gefässen haftenden Leberreste mit den Fingern zerdrückt. Um 11 1/2 h war die Operation beendet. Das Thier blieb nach der Operation im comatösen Zustande, Puls 160, Athem 16 bis 18 in der Minute, von tiefen Zügen unterbrochen; reagirt nur ganz schwach auf Reize. Da der Hund nach drei Stunden an den Extremitäten und der Schnauze kühl geworden, so wird er in Tücher eingehüllt. Um 4 h ist das Thier am Sterben, weshalb aus der Carotis noch 150 ccm Blut zur Analyse herausgelassen werden, wobei das Thier verendet. Trotz sorgfältiger Unterbindung der Leberstümpfe ist er an innerer Verblutung zu Grunde gegangen. Im Abdomen waren 800 ccm Blut, Magen und Darm mit Speisebrei gefüllt. In der Blase 56 ccm Harn, specifisches Gewicht 1.025; schwach sauer, enthält etwas Eiweiss und im Sediment spärliche rothe Blutkörperchen. Das Thier lebte nach der ersten Blasenentleerung 4 1/2 Stunden. Die Bestimmungen der oben genannten Bestandtheile im Blute und im Harne ergaben uns folgende Zahlen:

	Blut vor der Operation	Blut nach der Operation
In 100 g Blut Ammoniak in mg	2.6 u. 2.2, im Mittel 2.4	3.0
In 100 g Blut Harnstoff nach Abzug von präformirtem Ammoniak in mg	42.1	40.7

	Harn vor der Operation	Harn nach der Operation
In 100 ccm Harn Harnstoff in g	4.57	3.69
In 100 ccm Harn Ammoniak in mg	67.7	132.5
In 100 ccm Harn Gesammtstickstoff in g	2.41	2.31

Setzen wir den Gesammtstickstoff des Harnes = 100, so wurde derselbe ausgeschieden:

	Vor der Operation	Nach der Operation
In Form von Harnstoff	88.46 Proc.	74.53 Proc.
In Form von Ammoniak	2.31 „	4.47 „
In Form der übrigen Harnbestandtheile	9.23 „	21.0 „

II. Versuch. Hund, 25.1 kg schwer, erhält ebenfalls vor der Operation acht Tage lang täglich 800 g Fleisch und Hafersuppe nach Belieben. Am Tage der Operation Morgens 7 h erhält er noch ein Pfund Fleisch. Um 9 h Morgens werden ihm 200 ccm Blut zur Analyse entnommen, und hierauf wird die Venenfistel angelegt. Nach Anlegung derselben wird die Blase, welche nur 17 ccm Harn enthält,

vollständig entleert und hierauf die Leber exstirpirt. Das Gewicht derselben war gleich 551 g. Der nach dem Tode an den Gefässen hängende Leberrest wog 19 g. Unmittelbar nach der Operation läuft der Hund herum und bleibt $1^1/_2$ Stunden anscheinend normal, hierauf verfällt er in Anfangs clonische, später tetanische Krämpfe, worin er $3^1/_4$ Stunden nach der Blasenentleerung auch starb. Kurz vor dem Tode entnahmen wir aus der Carotis für die Analyse 200 ccm Blut. Im Abdomen waren 150 ccm flüssigen Blutes, Magen und Darm mit Speise gefüllt, in der Blase nur 11.5 ccm Harn von schwach saurer Reaction. Bei der geringen Menge konnten keine qualitativen Versuche damit angestellt werden und wurden davon 5 ccm für Ammoniakbestimmung, 2.5 ccm für Harnstoff und 2.5 ccm für Gesammtstickstoff verwendet. Die Analysen ergaben uns hier folgende Zahlen:

	Blut vor der Operation	Blut nach der Operation
In 100 g Blut Ammoniak in mg	2.4	3.3
In 100 g Blut Harnstoff in mg nach Abzug des präformirten NH_3	89.6	115.1

	Harn vor der Operation	Harn nach der Operation
In 100 ccm Harn Harnstoff in g	4.28	0.86
In 100 ccm Harn Ammoniak in mg	152.3	244.0
In 100 ccm Harn Gesammtstickstoff in g	2.45	0.94

Von dem Gesammtstickstoff wurden daher in Procenten im Harn ausgeschieden:

	Vor der Operation	Nach der Operation
In Form von Harnstoff	81.5 Proc.	42.6 Proc.
In Form von Ammoniak	5.1 „	21.4 „
In Form der übrigen Harnbestandtheile	13.4 „	36 „

Bezüglich der Methodik wollen wir bemerken, dass, da nach den bisherigen Erfahrungen Hunde die totale Leberexstirpation nur wenige Stunden überleben, wir durch den Vergleich des unmittelbar vor der Leberexstirpation und nach dem Tode analysirten Harnes bessere Einsicht in die Aenderung des Stoffwechsels erwarten durften, als durch den Vergleich des normal in 24 Stunden gelassenen Harnes mit dem nach dem Tode erhaltenen. Der Harnstoff im Blute und im Harne wurde nach vollständiger Ausfällung mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure nach Schöndorff[1], das Ammoniak nach der kürzlich von Nencki und Zaleski beschriebenen Methode[2] durch Destillation im Vacuum und der Gesammtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

Ueberblicken wir nun die Zahlen der beiden Versuche, so finden wir zunächst die Bestätigung der früheren Ergebnisse, wie sie von anderen Autoren, namentlich Meister[3]) und uns erhalten wurden, eine Zunahme des Ammoniaks im Blute und im

[1]) Pflüger's Arch. **54**, 423.

[2]) Arch. f. experim. Path. u. Pharm. **36**, 385. — Dieser Band S. 518.

[3]) Kiewer Universitätsnachrichten für das Jahr 1894 (russisch) und Maly's Jahresber. **25**, 315.

Harne, Zunahme der anderen stickstoffhaltigen Harnbestandtheile und Verminderung des Harnstoffes im Harne. Alles dies tritt besonders im zweiten Versuche deutlich hervor, wo der Hund nach der Operation, obgleich nur kurze Zeit, sich relativ wohl befand und dann in Krämpfe verfiel. Im zweiten Versuche sehen wir auch, dass nicht allein die Harnsecretion, sondern auch der Gehalt an Gesammtstickstoff bedeutend vermindert ist.

Im auffälligen Gegensatze dazu steht der Harnstoffgehalt des Blutes. Im ersten Versuche enthält das Blut nahezu die gleiche Menge Harnstoff vor wie nach der Operation, und im zweiten Versuche enthält das Blut nach der Leberexstirpation sogar mehr Harnstoff. Der Ammoniakgehalt im Blute und nach der Operation ist in beiden Fällen erhöht, doch ist die Zunahme nicht so bedeutend, um darin die Ursache der Intoxication resp. des Todes zu suchen. Der rasch eintretende Tod muss andere Ursachen haben. Um zu sehen, ob etwa in den Harn toxische Substanzen übergehen, haben wir den von den Analysen übrigen Rest des Harnes nach der Operation vom ersten Versuche auf seine toxische Wirkung geprüft. Ein Kaninchen, 1925 g schwer, erhält $10^1/_2$ h Morgens 10 ccm dieses Harnes subcutan injicirt. Die Temperatur des Thieres vor der Injection betrug 39.6°. Vier Stunden danach war dieselbe = 39.5°, Abends 7 h 40.1°. Das Thier war den ganzen Tag traurig und frass vorgesetzte Nahrung nicht. Am nächsten Tage war die Temperatur 39.1°, das Kaninchen hat sich ganz erholt und blieb gesund. Der injicirte Harn enthielt nur wenig, in der Hitze coagulirendes Eiweiss. Beim Stehen gab er einen starken Bodensatz von Uraten und abgekühlt und mit Salpetersäure versetzt erstarrte er zu einem Krystallbrei von Harnstoffnitrat.

In der Hoffnung, die Hunde länger am Leben zu erhalten, und so die Folgen der Leberausschaltung besser übersehen zu können, haben wir noch einen dritten Versuch angestellt, wobei einem Hunde nach Anlegung der Venenfistel die Leber nicht exstirpirt, sondern die Leberarterie unterbunden wurde.

Ein grosser Hund, 36 kg schwer, erhält sechs Tage vor dem Versuch täglich 1.2 kg Fleisch, keine Hafersuppe. Die Operation wurde Abends $9^1/_4$ h ausgeführt, nachdem vorher aus der Art. cruralis 250 ccm Blut zur Analyse entnommen wurden. Nach Anlegung der Venenfistel und Unterbindung der Leberarterie wurde aus der Blase aller Harn entleert. Seine Menge war = 140 ccm, specifisches Gewicht 1.036, Reaction schwach alkalisch. Nach der Operation erholte sich das Thier bald, und erst gegen 5 h Morgens zeigten sich die ersten clonischen Krämpfe, die allmählich in tetanische übergingen. Nach 6 h Morgens verfiel das Thier in Sopor und blieb reactionslos bis zum Tode, der gegen $8^1/_2$ h erfolgte. Kurz vor dem Tode in der Agonie wurden aus der Carotis 500 ccm Blut zur Analyse entnommen. Bei Eröffnung der Leibeshöhle zeigte die Leber die ersten Stadien der Gangraena humida. Im Magen ein wenig flüssiger Inhalt von saurer Reaction, der ganze Dünndarm mit Speisebrei gefüllt, Nieren stark hyperämisch, in der Blase 115 ccm Harn vom specifischen Gewicht 1.042. Reaction sauer. Qualitativ geprüft, enthält der Harn Gallenfarbstoff, viel Harnsäure und Eiweiss. Eine quantitative Eiweissbestimmung ergab darin 0.39 Proc. in der Hitze gerinnendes Eiweiss. Die Analysen des Blutes und des Harnes ergaben folgende Zahlen:

	Vor der Operation	Nach der Operation
In 100 g Blut Ammoniak in mg . . .	2.4	2.4
In 100 g Blut Harnstoff in mg	82.6	81.8
(Nach Abzug des präformirten NH_3)		
In 100 ccm Harn Harnstoff in g . . .	6.94 u. 7.10 im Mittel 7.02 Proc.	4.13 u. 4.14 im Mittel 4.135 Proc.
In 100 ccm Harn Gesammtstickstoff in g	4.02 Proc.	4.03 Proc.

Die Leber dieses Hundes enthielt 9.9 mg, die Lunge 11.9 mg NH_3 in 100 Theilen des frischen Gewebes.

Die Ammoniakbestimmungen im Harne in diesem Versuche vor und nach der Operation sind leider verunglückt. Aus den Bestimmungen ergiebt sich, dass vor der Operation 81.5 Proc. des Gesammtstickstoffes, nach der Operation dagegen nur 47.8 Proc. als Harnstoff ausgeschieden wurden. Da der Harn vor und nach der Operation fast die gleiche Stickstoffmenge enthielt, so finden wir auch in diesem Versuche, dass nach Ausschaltung der Leber die Bildung des Harnstoffes ganz erheblich herabgesetzt wird. Auffallend ist es, dass hier vor und nach der Operation das Blut die gleiche Menge Ammoniak enthielt. In Uebereinstimmung mit den beiden vorigen Versuchen ist der Harnstoffgehalt des Blutes vor und nach der Operation beinahe derselbe. Wenn daher nach Ausschaltung der Leber der Harnstoffgehalt des Blutes keine Aenderung erleidet, und Hunde — die, wie in unserem letzten Versuche, den Ausschluss der Leber länger als 10 Stunden überleben — dabei noch immer Harnstoff ausscheiden — der Harn enthielt noch 4.13 Proc. Harnstoff —, so können wir die Leber der Säugethiere nicht als den ausschliesslichen Ort der Harnstoffbildung betrachten. Zu ganz gleichem Schlusse gelangt auch M. Kaufmann[1]) anlässlich seiner „Neuen Untersuchungen über den Ort der Harnstoffbildung im Thierkörper". Das Blut hungernder Hunde enthielt in seinen Versuchen im Mittel 32 mg pro 100 g, die Leber im Mittel 109 g, das Gehirn 86 g, der Muskel 64[2]), die Milz 62 mg. Alle diese Organe enthielten daher mehr Harnstoff als das Blut, und Kaufmann nimmt an, dass alle diese Organe sich an der Harnstoffbildung betheiligen. Ob der Harnstoff in diesen Organen nur aus carbaminsaurem Ammoniak oder durch Hydrolyse aus complexeren Verbindungen entsteht, bleibt noch zu untersuchen. Wahrscheinlicher ist uns die erste Annahme, da wir nach Fleischfütterung bei Hunden in allen Organen bedeutend höheren Gehalt an Ammoniak als im Blute fanden, und beim Hunger der Ammoniakgehalt darin bis auf ein Minimum sinkt. Zweifellos ist nach Ausschaltung der Leber die Harnsecretion bedeutend herabgesetzt. Der Harnstoff im Harne ist aber nicht deshalb vermindert, weil er von den Nieren nicht ausgeschieden wird, sondern weil nach Ausschaltung der Leber viel weniger davon im Körper gebildet wird. In allen drei Versuchen ist der Harnstoffgehalt des Blutes vor und nach der Operation

[1]) Nouvelles recherches sur le lieu de formation de l'urée dans l'organisme animal. Rôle prépondérant du foie dans cette formation. Archive de physiol. XXVI, p. 531 bis 545 und Maly's Jahresber. **25**, 172.

[2]) Nach einer vorläufigen Mittheilung von Schöndorff enthalten die Muskeln Harnstoff in Mengen, die nicht durch den Blutgehalt der Muskeln erklärt werden können. Pflüger's Arch. **62**, 332.

ziemlich der gleiche. Bei einer Retention nach der Operation hätte er bedeutend grösser sein müssen. Da der Harnstoffgehalt des Blutes vor und nach der Operation ziemlich der gleiche ist, so spricht dies dafür, dass ausser der Leber auch andere Organe an der Harnstoffbildung betheiligt sind, und der Uebergang des Harnstoffes aus den Organen in das Blut vom Gehalte der Organe abhängig ist und nach bestimmten Verhältnissen regulirt wird.

Mit dem Ergebnisse des physiologischen Experimentes, wonach also der Harnstoff nicht ausschliesslich in der Leber gebildet wird, stehen auch die klinischen, bei der Lebercirrhose, der acuten Leberatrophie und Phosphorvergiftung gesammelten Erfahrungen im besseren Einklang und werden Fälle, wo bei schweren Erkrankungen der Leber der Harnstoffgehalt im Harne nur wenig oder gar nicht herabgesetzt ist, verständlich. Wenn dagegen von Seiten der Kliniker behauptet wird, „dass nirgends ein sicherer Beweis für die Harnstoff bildende Function der Leber erbracht ist, und dass die Frage nach dem Orte der Harnstoffbildung im Säugethierorganismus als eine offene bezeichnet werden muss“ [1]), so ist das entschieden nicht richtig. Wir wiederholen hier, was wir schon in unserer letzten Publication [2]) gesagt haben, dass auf Grund: 1. der Durchblutungsversuche von v. Schröder und Salomon, 2. der Thatsache, dass das mit dem Pfortaderblute zugeführte Ammoniak in der Leber zurückgehalten wird, und 3. der sehr erheblichen Verminderung des Harnstoffes im Harne nach möglichst vollständiger Exstirpation der Leber, wir die harnstoffbildende Function der Leber als erwiesen erachten.

Gerade die von Münzer und Richter untersuchten Fälle von acuter Leberatrophie beweisen das Gegentheil von dem, was die genannten Autoren behaupten. In den zwei von Münzer [3]) mitgetheilten Fällen, wo bei der mikroskopischen Untersuchung von normalem Leberparenchym nichts mehr zu sehen war, enthielt der Harn im Falle Nr. 11 in Procenten des Gesammtstickstoffes 52.4 Proc. N als Harnstoff, 36.7 Proc. N als Ammoniak und 10.9 Proc. N in Form der übrigen Stickstoffsubstanzen. Im Falle Nr. 13 waren im Harne 52.9 Proc. N als Harnstoff, 17.3 Proc. N als Ammoniak und 29.8 Proc. N der übrigen Harnsubstanzen, also Zahlen ähnlich denen, wie wir sie z. B. im Versuche Nr. 2 nach möglichst vollständiger Exstirpation der Leber erhalten haben. Im Falle Nr. 12, wo die mikroskopische Untersuchung noch ziemlich viele gut erhaltene Leberläppchen ergab, erhielt Münzer für den Harnstoffstickstoff nahezu normale Zahlen: nämlich 91.8 Proc. Stickstoff als Harnstoff, 6.9 Proc. N als Ammoniak und nur 1.3 Proc. N der übrigen Harnsubstanzen. In dem ersten Falle von P. P. Richter, wo mikroskopisch fast vollständige Destruction der Leberzellen gefunden wurde, und sie nur an wenigen Stellen noch gut erhalten waren, enthielt der Harn an den zwei letzten Tagen vor dem Tode 61 Proc. des N als Harnstoff, 10 Proc. N als Ammoniak und 5.9 Proc. als Alloxurkörper, resp. 72 Proc. N als Harnstoff, 16 Proc. N als Ammoniak und 6.6 Proc. als Alloxurkörper; also auch hier eine erhebliche Vermehrung des Ammoniaks und Verminderung

[1]) Vergl. Münzer, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 197 und Richter, Berliner klin. Wochenschr. **33**, 453 (1896).

[2]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **37**, 49. — Dieser Band S. 545.

[3]) l. c. S. 193.

des Harnstoffes. Der zweite Fall von Richter ist für die vorliegende Frage werthlos, weil gerade an den zwei letzten Tagen des Lebens der Urin nicht aufgefangen wurde.

Aus diesen Zahlen ersehen wir, dass, je vollständiger der Schwund des Leberparenchyms, um so bedeutender die Zunahme von Ammoniak und Abnahme von Harnstoff im Harne ist. Ist, wenn auch nur ein geringer Theil der Leberzellen erhalten, so sind die Veränderungen in der Zusammensetzung des Harnes so gering, dass die erhaltenen Differenzen innerhalb der analytischen Fehlergrenzen liegen; denn erstens wird der zurückbleibende, functionsfähige Rest der Leberzellen mit erhöhter Energie arbeiten, und zweitens wird mit beginnender Anhäufung des Ammoniaks im Blute aller Wahrscheinlichkeit nach auch in den übrigen Organen mehr Harnstoff gebildet; allerdings nur bis zu einem gewissen Grade, denn, wie wir an den Venenfistelhunden zeigten, vermögen die anderen harnstoffbildenden Organe für die Dauer die hierauf bezügliche Leistung der Leber nicht zu compensiren.

In unserer ersten, gemeinschaftlich mit Hahn und Massen [1]) ausgeführten Arbeit haben wir gezeigt, dass nach Anlegung der Venenfistel erst dann merkliche Veränderungen in den Stickstoffbestandtheilen des Harnes eintreten, wenn die Hunde die schweren Formen der Carbaminsäurevergiftung zeigen. In einer vor Kurzem publicirten Arbeit hat Dr. R. Magnanimi [2]) unsere Versuche wiederholt. Er analysirte den Harn mehrere Tage vor Anlegung der Venenfistel und dann zwei bis drei Tage nach der Operation. Schon deshalb war vorauszusehen, dass seine Bestimmungen für die Frage der Harnstoffbildung in der Leber wenig verwerthbares Material liefern werden. Ueberdies wurde bei den Hunden Magnanimi's die Venenfistel nach dem von Prof. Queirolo modificirten Verfahren gelegt, was für den vorliegenden Zweck nicht eine Verbesserung, sondern eine Verschlechterung der von einem von uns (P.) genau ausgearbeiteten Methode ist. Queirolo [3]) vernäht die Pfortader mit der Vena cava nicht dicht am Leberhilus, sondern tiefer, unter der Einmündung der Vena pancreatico-duodenalis, welches letztere Gefäss er unterbindet. Wir haben in unseren Versuchen gesehen, dass in solchen Fällen die Intoxicationserscheinungen ausbleiben können, weil das Blut der V. pancreatico-duodenalis, dieses im Pfortadersystem sehr wichtigen Astes, doch in die Leber gelangt, indem sich aus den kleinen Gefässen, welche in dem Ligamentum hepatogastroduodenale liegen, ein Collateralkreislauf bildet. Weil Queirolo nicht genau nach unserem Verfahren operirte, erklären wir uns die Stauung im Venensysteme und die Albuminurie bei den Hunden Magnanimi's. Der Harn unserer Venenfistelhunde war bis zum Lebensende eiweissfrei, und es ist nicht das bei der Narkose verwendete Morphium die Ursache der Albuminurie. Endlich ist die Arbeit Magnanimi's mit Rechnungsfehlern behaftet, und die von ihm aus seinen Zahlen gezogenen Schlüsse entsprechen nicht dem richtigen Sachverhalte.

So berechnet Magnanimi in dem dritten Versuche den ausgeschiedenen Stickstoff in Procenten des Gesammtstickstoffs wie folgt:

---

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **32**, 161. — Dieser Band S. 290.

[2]) Le modificazioni del ricambio azotato dopo l'innesto della vena porta inferiore. Il Policlinico. Vol. III, Nr. 5 (1896).

[3]) Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen u. der Thiere. **15** (1£

	Magnanimi's Rechnung:	Aus den mitgetheilten Zahlen berechnen wir:
	Vor der Operation im Mittel	
Als Harnstoff	68.24 Proc.	74.11 Proc.
Als Ammoniak	6.00 „	6.04 „
Als N der übrigen Harnsubstanzen	25.67 „	19.85 „
	Nach der Operation im Mittel	
Als Harnstoff	66 Proc.	64.12 Proc.
Als Ammoniak	12 „	11.94 „
Als N der übrigen Harnsubstanzen	22 „	23.94 „

Und in dem vierten und letzten Versuche:

	Magnanimi's Rechnung:	Aus den mitgetheilten Zahlen berechnen wir:
	Vor der Operation im Mittel	
Als Harnstoff	79.40 Proc.	74.44 Proc.
Als Ammoniak	4.30 „	4.40 „
Als N der übrigen Harnsubstanzen	16.30 „	21.16 „
	Nach der Operation im Mittel	
Als Harnstoff	78.40 Proc.	78.40 Proc.
Als Ammoniak	11.17 „	10.63 „
Als N der übrigen Harnsubstanzen	10.43 „	10.97 „

Magnanimi folgert aus seinen Versuchen, dass der Harnstoff nach der Operation um etwas vermindert werde. Dies geht aber aus seinen Zahlen nicht hervor. Im ersten Versuche beträgt die Verminderung allerdings 2.46 Proc. (73.94 Proc. gegen 76.40 Proc., und nicht wie M. rechnet 73.23 Proc. gegen 77.10 Proc.). Versuch Nr. 2 kommt nicht in Betracht, da die Zahlen vor der Operation fehlen. Im Versuch Nr. 3 beträgt die Abnahme 10 Proc. (64.12 Proc. gegen 74.11 Proc.). Dagegen im Versuch Nr. 4 werden als Harnstoffstickstoff nach der Operation 4 Proc. mehr ausgeschieden. Dementsprechend verschieben sich auch die Zahlen für die übrigen Stickstoffsubstanzen des Harnes. Das Einzige, was die Bestimmungen Magnanimi's ergeben, ist, dass die nach Queirolo operirten Hunde ausser Eiweiss noch Ammoniak in abnorm grossen Mengen ausscheiden.

In unseren oben angeführten Versuchen war nach Ausschaltung der Leber der Ammoniakgehalt des Blutes nur um ein Weniges erhöht, und jedenfalls ist hier nicht das carbaminsaure Ammoniak die Todesursache gewesen. Wir müssen Lieblein[1]) beistimmen, dass das Krankheitsbild nach der acuten Leberausschaltung verschieden ist von dem nach Anlegung der Fistel beobachteten. Im ersten Fall überwiegt das Coma, und die Krämpfe treten ganz gegen das Ende des Lebens ein. Für die Venenfistelhunde sind die Ataxie, Amaurose und die Excitationserscheinungen charakteristisch. Lieblein ist aber im Irrthum, wenn er die Intoxicationssymptome der Venenfistelhunde weniger als den Ausdruck immer neuer, acut auftretender toxischer Insulte, als vielmehr bereits als Folge einer krankhaften Veränderung wichtiger, namentlich nervöser Apparate betrachtet. Lieblein berücksichtigt nicht die Thatsache, dass diese Intoxicationssymptome bei Venenfistelhunden durch Fütterung mit Fleisch oder Zufuhr von Ammoniaksalzen in Dosen, die für gleich grosse Hunde ganz unschädlich sind, willkürlich hervorgerufen werden können. Dass starke phy-

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 332.

sische oder psychische Erregungen den Eintritt der Vergiftungssymptome fördern, haben wir selbst gesehen [1]). Nachdem wir aber zeigten, dass das Blut der Venenfistelhunde im Intoxicationsstadium mehr als dreimal so viel Ammoniak, als das Blut gesunder Thiere enthält, glauben wir, dass die Anhäufung des carbaminsauren Ammoniaks im Blute und den Organen die Ursache der Intoxicationserscheinungen der Venenfistelhunde ist.

Der Hund, in dessen Blute wir die Anhäufung von carbaminsaurem Ammoniak constatirten, zeigte die Vergiftungssymptome, nachdem wir ihm citronensaures Ammoniak in den Magen injicirten. Wir wollten jedoch sehen, wie gross der Ammoniakgehalt des Blutes sein wird, wenn der Hund so zu sagen spontan, einzig nach reichlichem Fleischgenuss, erkrankt. Auf unseren Wunsch und mit unserer Unterstützung wurde dieser Versuch von Herrn O. Lundberg [2]) mit folgendem Ergebniss ausgeführt:

Ein Hund, 33.7 kg schwer, erhält zwei Tage vor der Operation täglich 600 ccm Milch und 800 g Brot. Am zweiten Tage wird ihm aus einer kleinen Schenkelarterie etwas Blut entnommen und darin der Ammoniakgehalt bestimmt. In 84 ccm des Blutes gefunden 1.89 mg NH_3 = 2.2 mg in 100 ccm. Am dritten Tage, den 8. Februar, Morgens, erhält er nur die Milch. Um 12 h wird der Hund in der Chloroformnarkose operirt, nachdem ihm kurz vorher 14 ccm einer einprocentigen Morphiumlösung in eine Vene injicirt wurden. Die Venenfistel wird möglichst gross gemacht. Die Blutung beim Durchführen der Scheere ist nicht bedeutend und wird sofort gestillt. Die Operation in der früher beschriebenen Weise wurde glatt ausgeführt. Am nächsten Tage ist das Thier in gutem Zustande; es wird bis zur vollständigen Heilung nur mit Milch und Brot ernährt. Dabei ging das Gewicht des Thieres allmählich herunter und betrug nach zwei Wochen nur 24 kg. Es wird nun mit Fleischfütterung begonnen. Am 27. Februar erhielt das Thier zum ersten Male wiederum 100 g Fleisch; am 28. und 29. zu dem übrigen Futter noch 200 g Fleisch. Am 29. treten die ersten Vergiftungssymptome ein, die sich darin äussern, dass der Gang des Thieres atactisch wird. In der Nacht vom 29. Februar auf den 1. März werden die Vergiftungssymptome bedeutend stärker, es tritt Erbrechen ein, schwankender Gang, Zuckungen in den Extremitäten, stierer Blick, Schmerzgefühl stark herabgesetzt, aber nicht geschwunden. Um $1\frac{1}{2}$ h am 1. März werden dem Thiere 130 ccm Blut entnommen. Während der Blutentnahme verfällt das Thier in allgemeine Zuckungen, die aber bald vergehen. Zwei Bestimmungen dieser Blutprobe ergaben folgende Zahlen:

In 55 ccm Blut gefunden 3.01 mg NH_3 = 5.4 Proc.
In 69.0 „ „ „ 4.06 „ „ = 5.8 „

Vom 1. bis 5. März erhält der Hund nur Milch und Brot. Am 5. März erhält er wiederum 400 g Fleisch. Am 6. war schon eine kleine Veränderung im Wohlbefinden des Hundes zu bemerken, er wurde nicht so munter wie Tags vc

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **32**, 169. — Dieser Band S. 297.

[2]) Versuche von Dr. O. Lundberg sind auch im Drucke als Inaug.-Di· burg im Jahre 1897 erschienen.

Allmählich steigerte sich dieser Zustand und am 9. traten deutliche Vergiftungssymptome wie vorher ein. In einer am 9. März entnommenen Blutprobe wurde der Ammoniakgehalt = 3.6 mg in 100 ccm Blut gefunden.

Vom 10. März ab bekommt der Hund Zwieback (Weissbrot) und Milch, soviel er davon zu sich nehmen will. Während der ganzen Zeit hatte der Harn des Hundes normale Beschaffenheit, er enthielt weder Eiweiss, noch Gallenfarbstoff. Der am 17. März in ein untergehaltenes Gefäss gelassene Harn ergab für den Ammoniak- und Stickstoffgehalt folgende Zahlen: Gefunden in 100 ccm Harn 32.4 mg NH_3 = 26.7 mg Ammoniakstickstoff. Der Gesammtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt, wurde für 100 ccm Harn = 0.8057 g gefunden. Der Ammoniakstickstoff beträgt hier 4 Proc. des Gesammtstickstoffes.

Am 19. März erhält der Hund Morgens $^1/_2$11 h 100 g Fleischpulver, was etwa einem Pfund Fleisch entspricht. Ausserdem bekam er 80 g frisches Fleisch und 800 ccm Milch. Um 5 h Nachmittags ist das Thier somnolent, geht, wenn aufgehoben, stark schwankend umher und reagirt auf Nadelstiche nur wenig. Um 6 h wird ihm Blut entnommen und in 100 ccm davon 2.8 mg NH_3 gefunden. In der Nacht hat der Hund 100 ccm Harn gelassen, dessen Analyse folgende Zahlen ergab: In 100 ccm gefunden 80.6 mg NH_3 = 66.3 mg Ammoniakstickstoff. Der Gesammtstickstoff, nach Kjeldahl bestimmt, war = 1.77 g NH_3 = 1.458 Proc. N. Der Ammoniakstickstoff beträgt hier 4.5 Proc. des Gesammtstickstoffes. Der Hund erholte sich von diesem Anfall und wurde bis zum 26. März in Ruhe gelassen. An diesem Tage erhält er 1200 g Fleisch, wovon er in der Nacht mehr als die Hälfte erbricht. Am folgenden Tage erhält er wiederum Morgens nach 10 h 800 g Fleisch, wovon er Nachmittags 3 h 300 g erbricht. Bald darauf stellen sich Vergiftungssymptome ein, starker Speichelfluss, Ataxie, hauptsächlich der hinteren Extremitäten, dann Blindheit. Ab und zu treten Zuckungen in der Gesichtsmusculatur auf, das Thier macht mit den Vorderpfoten abwehrende Bewegungen und stösst mit der Schnauze gegen die Erde. In der Nacht verstärkten sich die Symptome derart, dass der Tod zu befürchten war, weshalb ihm Morgens 3 h 130 ccm Blut entnommen wurden. Der Hund verblieb im comatösen Zustande bis zum Tode, der um $^1/_2$8 h Morgens eintrat, nachdem wenige Minuten vorher ihm noch 90 ccm Blut entnommen waren. Die sofort ausgeführte Section zeigte, dass die Venenfistel gut ausgeführt, und die Oeffnung von genügender Weite, so dass keine Stauung im Portalkreislaufe zu bemerken war. Die Leber war klein, gelb, und die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass die Leber atrophisch und fettig degenerirt war. Die Nieren zeigten Schwellung der Harncanälchen und Trübung der Epithelien. In der Blase waren 520 ccm gelben, klaren Harnes vom specifischen Gewicht 1.026. Der Harn reagirte alkalisch, war eiweissfrei und trübte sich stark beim Stehen in der Kälte, unter Abscheidung von Uraten. Aus einer abgekühlten Probe krystallisirte nach Zusatz von Salpetersäure Harnstoffnitrat aus. Die Bestimmung der einzelnen Stickstoffbestandtheile darin ergab in Procenten folgende Zahlen: Gesammtstickstoff = 2.253 g, Ammoniak = 0.2078 g = 0.1711 g Ammoniakstickstoff. Derselbe beträgt hier 7.6 Proc. des Gesammtstickstoffes. Das in der Nacht entnommene Blut, am nächsten Morgen verarbeitet, ergab in 45 ccm 4.24 mg NH_3 = 9.4 mg in 100 g Blut. Dieser

enorme Gehalt an Ammoniak veranlasste uns, am nächsten Tage die Bestimmung zu wiederholen. In 36 ccm desselben Blutes wurde gefunden 2.89 mg = 8.0 Proc. Im Mittel aus beiden Bestimmungen enthielt also das Blut 8.7 Proc. NH_3. Das in der Agonie aufgefangene Blut enthielt in 44 ccm 2.15 mg NH_3 = 4.87 mg in 100 ccm. Die NH_3-Bestimmungen in den Organen lieferten folgende Zahlen:

Name des Organes	Zur Bestimmung verwendete Menge in g	Gefunden NH_3 in mg	In 100 g Subst. NH_3 in mg
Darmschleimhaut	65	16.7	25.7
Magenschleimhaut	60	31.1	52
Leber	57	9.18	16
Gehirn	50	15.7	31
Muskeln	100	24	24
Niere	48	13.5	28
Lunge	60	12	20

Achtundvierzig Tage nach Anlegung der Venenfistel blieb der Hund am Leben, und wie aus dem Mitgetheilten ersichtlich, traten mit jeder erneuten Zufuhr stickstoffhaltiger Nahrung die Vergiftungssymptome mehr oder weniger stark auf. Je mehr der Hund Fleisch erhielt, um so höher war auch der Ammoniakgehalt im Harne und im Blute. Besonders reich daran war das Blut in der Nacht vor dem Tode, wo der Hund im arteriellen Blute so viel Ammoniak hatte, wie wir es in früheren Versuchen nur in der V. mesenterica und pancreatica nach reichlicher Fleischfütterung gefunden haben. Auch die Organe, besonders das Gehirn und die Lunge, zeichnen sich durch relativ hohen Ammoniakgehalt aus. Dieser letzte Befund erklärt vielleicht eine bei Menschen in Fällen von vorgeschrittener Lebercirrhose beobachtete Erscheinung, auf die zuerst Münzer[1]) aufmerksam machte. Münzer hebt hervor, dass dabei der im Harne ausgeschiedene Stickstoff sehr hinter der Menge des in der Nahrung aufgenommenen zurückbleibt. In einem von Münzer herangezogenen und von Fawitzky untersuchten Falle von atrophischer Lebercirrhose im letzten Stadium fand letzterer in der dritten, sieben Tage umfassenden Reihe, dass im Mittel von den 16.1 g zugeführtem Nahrungsstickstoff nur 9.83 g in den Harn und 2.25 g in die Fäces übergingen. Ueber den Verbleib der übrigen 4 g, d. h. des vierten Theiles des Nahrungsstickstoffes, giebt die Analyse keine Auskunft. Der hohe Ammoniakgehalt des Blutes und der Lunge unserer Venenfistelhunde deutet darauf hin, dass ein Theil des Stickstoffes als Ammoniak gasförmig mit der Exspirationsluft entweicht. Wir werden unsere Untersuchung in dieser Richtung hin fortsetzen und über das erhaltene Resultat berichten.

Zum Schlusse erfüllen wir die angenehme Pflicht, Herrn J. Zaleski, Assistenten an der chemischen Abtheilung des Instituts, für seine Hülfe bei dieser Untersuchung unseren besten Dank auszusprechen.

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 182.

Ueber die chemische Zusammensetzung des nach verschiedenen Methoden dargestellten Hämins und Hämatins

von

M. Białobrzeski.

Ber. **29**, 2842. — Arch. des sciences biolog. **5**, 233. — Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Prof. J. Horbaczewski abgedruckt. Maly's Jahresber. **26**, 146.

Da Cloëtta[1]) angiebt, dass das nach seiner Methode dargestellte reine Hämin auf ein Atom Fe nicht vier, sondern drei Atome N enthält, unterzog Verf. im Nencki'schen Laboratorium Häminkrystalle, welche nach Nencki und Sieber, nach Cloëtta, sowie nach Schalfejew[2]) dargestellt wurden, einer Untersuchung und berücksichtigte auch die in den Mutterlaugen gelösten Farbstoffe. — Das nach Nencki und Sieber aus Pferdeblut dargestellte Hämin hatte eine Zusammensetzung, die der Formel $(C_{32}H_{31}N_4FeO_3Cl)_4C_5H_{12}O$ entsprach. Aus diesem Hämin konnte das Hämatin leicht erhalten werden, indem ein Gewichtstheil Hämin in drei Gewichtstheilen Natronlauge in 10 Proc. wässeriger Lösung in der Kälte gelöst, sofort filtrirt, die alkalische Lösung mit HCl versetzt, der entstandene Niederschlag mit kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Cl-Reaction gewaschen, ausgepresst und über Schwefelsäure getrocknet wurde. Das so dargestellte Hämatin enthält noch 0.3 Proc. Cl und hatte eine Zusammensetzung, die für die Formel $C_{32}H_{31}N_4FeO_3.OH$ stimmte. Zugleich wurde beobachtet, dass Häminkrystalle schon durch heisses Wasser verseift — in Hämatin umgewandelt — werden. — Das nach der Vorschrift von Schalfejew dargestellte Hämin hatte eine andere Zusammensetzung und enthielt ein Molekül Essigsäure, das durch Behandlung mit Lauge abgespalten werden konnte. Die analytischen Zahlen entsprachen der Formel $(C_{32}H_{31}N_4FeO_3Cl)_3 + C_{32}H_{31}N_4FeO_3.O.CO.CH_3 + C_2H_4O_2$. Aus diesem Hämin dargestelltes Hämatin gab Zahlen, die am besten auch der Formel $C_{32}H_{31}N_4O_3Fe.OH$ entsprachen. Aus diesem Hämin wurde mittels BrH in Eisessig auch salzsaures Hämotoporphyrin dargestellt, welches für die Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3HCl$ stimmte. In beiden erwähnten Häminen war kein Xanthin nachweisbar, so dass es feststeht, dass in demselben auf ein Fe vier N kommen. — Als das Hämin genau nach Cloëtta dargestellt wurde, konnte kein Präparat erhalten werden, dessen Zusammensetzung der von Cloëtta angegebenen entsprach. Je nach der Menge der bei der Darstellung zugesetzten Schwefelsäure wurden verschieden zusammengesetzte Präparate erhalten und zwar stieg bei grösserem Zusatz von Schwefelsäure der C- und H-Gehalt, während der N- und Fe-Gehalt fiel. Das Cloëtta'sche Hämin zeigte auch andere Eigenschaften als die anderen zwei Hä-

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **36**, 349.

[2]) Journ. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. (1885), **17**, 30.

mine, nämlich es löste sich leicht in Chloroform und schwerer in Alkalien. Die concentrirte Lösung dieses Hämins in Chloroform lieferte beim Vermischen mit Aether einen in Aether unlöslichen und einen in Aether löslichen Antheil, die eine verschiedene Zusammensetzung hatten. Beide Fractionen waren jedoch ähnlich zwei Farbstoffen, die aus den Mutterlaugen der Hämindarstellung nach Nencki und Sieber als ein in Aether löslicher und ein unlöslicher Farbstoff erhalten wurden, so dass es sich hier offenbar um Zersetzungsproducte des Hämins handelt. Dafür spricht auch der Umstand, dass das Cloëtta'sche Hämin ausser dem Häminspectrum auch dasjenige des Hämatoporphyrins zeigte, woraus folgt, dass bei dieser Darstellungsweise des Hämins zum Theil Fe abgespalten wird.

Ueber die biologischen Beziehungen des Blatt- und des Blutfarbstoffes

von

M. Nencki.

Ber. **29**, 2877. Eingegangen am 27. November. — Arch. des sciences biolog. **5**, 254. — Gazeta Lekarska (1897), No. 23.

Im Anschluss an die im vorigen Hefte mitgetheilte Untersuchung über das Hämin von M. Bialobrzeski[1]) sei es mir gestattet, die biologische Bedeutung des vor Kurzem von Schunck und Marchlewski[2]) gelieferten Nachweises, dass ein Derivat des Chlorophylls — das Phylloporphyrin — zu dem von mir und N. Sieber dargestellten Hämatoporphyrin in naher genetischer Beziehung steht, hervorzuheben. Die Untersuchungen der genannten Autoren ergaben, dass das Phylloporphyrin, $C_{16}H_{18}N_2O$, zu dem Hämatoporphyrin, $C_{16}H_{18}N_2O_3$, vielleicht „in einem ähnlichen Verhältniss steht, wie beispielsweise Purpurin zum Oxyanthrachinon, das heisst, dass beide Körper verschiedene Oxydationsstufen einer und derselben Kernsubstanz sind". Die Spectra der beiden Farbstoffe in ätherischer, saurer und alkalischer Lösung, ebenso wie der Lösungen der respectiven Zinksalze, sind identisch; nur sind die Bänder des Hämatoporphyrins eine Spur nach Roth hin verschoben. Diese Aehnlichkeit in den Absorptionsbändern erstreckt sich nach den photographischen Aufnahmen von Tschirch mit dem Quarzspectrographen auch auf das ultraviolette Spectrum. In neutralen Lösungsmitteln zeigen beide Körper die gleiche Farbe und Fluorescenz und werden, in ätherischer Lösung in zugeschmolzenen Probirröhrchen aufbewahrt, schon durch das zerstreute Tageslicht nach einigen Monaten vollkommen farblos. Hervorheben möchte ich die Aehnlichkeit im chemischen Verhalten der Muttersubstanzen der beiden Farbstoffe — des Hämins und des Phyllotaonins. —

---

[1]) Ber. **29**, 2842. — Vorangehende Mittheilung in diesem Bande.

[2]) Ann. d. Chem. **290**, 306.

Bei der Einwirkung von Salzsäure, Bromwasserstoffsäure oder Essigsäure [1]) auf das Hämoglobin werden die respectiven Hämine, $C_{32}H_{31}O_3N_4FeCl$, $C_{32}H_{31}O_3N_4FeBr$, und $C_{32}H_{31}O_3N_4FeO.COCH_3$, d. h. Ester des Hämatins erhalten, aus welchen durch Verseifen das Hämatin, $C_{32}H_{31}O_3N_4FeOH$, entsteht. Durch gleich leichte Esterbildung ist auch das Phyllotaonin ausgezeichnet. Aus dem Alkachlorophyll, $C_{52}H_{57}N_7O_7$, entstehen nach Schunck und Marchlewski, je nachdem die Zersetzung mittelst Salzsäure, in Aethyl- oder Methylalkohol vorgenommen wird, die respectiven Ester des Phyllotaonins, welche beim Verseifen das freie Phyllotaonin, $C_{40}H_{39}N_6O_5OH$, liefern. Durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf das Phyllotaonin wurde von den genannten Autoren auch die Acetylverbindung, $C_{40}H_{39}N_6O_5.O.COCH_3$, erhalten.

Hämatin resp. Hämochromogen, mit verschiedenen Eiweissstoffen verbunden, giebt die Hämoglobine der verschiedenen Blutarten. Vor Kurzem machten H. Bertin-Sans und J. Moitessier [2]) die Mittheilung, dass es ihnen gelungen sei, aus Eiweiss und Hämatin in alkalischer Lösung Methämoglobin darzustellen. Durch Einwirkung von Schwefelammonium hätten sie daraus Hämoglobin und aus diesem das Oxyhämoglobin erhalten. Leider fehlt der wichtigste Beweis für ihre Angabe, nämlich die Darstellung der Krystalle der betreffenden Hämoglobine. Andererseits gelang es Herrn W. Küster [3]), das Hämatinmolekül ziemlich weit abzubauen. Durch Einwirkung von Chromsäure in essigsaurer Lösung erhielt er daraus zwei stickstofffreie, verhältnissmässig einfach zusammengesetzte Säuren von der Formel $C_8H_{10}O_5$ und $C_8H_{10}O_6$, deren Constitution wohl bald aufgeklärt sein wird. In welcher Form und an welche Stoffe das Chlorophyll in den Pflanzenzellen gebunden ist, wissen wir nicht; auch sind die chemischen Beziehungen des Chlorophylls zu Phylloporphyrin lange nicht so einfach, als wie die des Hämatins zu Hämatoporphyrin.

Die Entdeckung von Schunck und Marchlewski ist für die biologische Chemie deshalb von so capitaler Bedeutung, weil sie uns einen Einblick in die entfernteste Vergangenheit der Entwickelungsgeschichte organisirter Wesen gestattet und auf die Stammverwandtschaft der so verschiedenen Organismen, wie der pflanzliche und thierische sind, hinweist. Die Theorie Darwin's über die Entstehung der Arten ist wesentlich auf Veränderlichkeit der Formen unter verschiedenenen Lebensbedingungen im Kampfe um's Dasein begründet. Die Verschiedenheit der Organismen aber ist nicht allein durch die Form und den Bau der Organe, sondern auch durch die chemischen Verbindungen, aus welchen die lebendigen Zellen bestehen, bedingt. Von der Natur dieser Verbindungen hängt der Modus des Stoffwechsels ab, und je nach dem Stoffwechsel richtet sich die Gestalt der Zellen und ihre Differenzirung zu einzelnen Organen. Mit anderen Worten, die Form der Zellcomplexe, welche die einzelnen Organe bilden, wird beeinflusst von dem Stoffwechsel, an welchen sich die einzelnen Organismen, je nach den äusseren Lebensbedingungen im Kampfe um's Dasein, einpassen. Parallel mit der Aenderung der

[1]) Beiträge zur Kenntnis des Hämatins von W. Küster. Tübingen 1896.

[2]) Bull. soc. chim. Paris, Mai 1893.

[3]) loc. cit.

Lebensbedingungen ändert sich nicht nur die Form, sondern gleichzeitig auch die chemische Zusammensetzung der Zellen und ihr Stoffwechsel. Ein tieferes Verständniss der Entwickelungsgeschichte der Organismen ist daher nicht allein vom Vergleich der Formen, sondern auch vom Vergleich der chemischen Zusammensetzung des Zellleibes und des Stoffwechsels zu erwarten. Von diesem Gesichtspunkte aus ist die Entdeckung von Schunck und Marchlewski, dass der Blatt- und Blutfarbstoff, welche so verschiedene Function haben, stammverwandt sind, von ganz hervorragender Bedeutung.

Dank der intensiven bacteriologischen Forschung der letzten zwei Decennien sind unsere Kenntnisse über die einzelligen Organismen und ihren Stoffwechsel wesentlich gefördert, wodurch auch die Lebenserscheinungen der pflanzlichen und der thierischen Organismen uns in einem neuen Lichte erscheinen. Durch die Untersuchungen von S. Winogradsky wissen wir, dass die chlorophylllosen Nitritbacterien nur aus Kohlensäure, Ammoniak und anorganischen Salzen complexe organische Verbindungen aufbauen, wachsen und sich vermehren. Es findet hier, gleich wie in grünen Pflanzen, eine Reduction der Kohlensäure und Bildung organischer Substanz statt. Der Unterschied besteht nur darin, dass der Sauerstoff nicht gasförmig entweicht, sondern das Ammoniak von der Nitritbacterie zu salpetriger Säure oxydirt wird. Eine Anzahl anderer Spaltpilze ernährt und vermehrt sich, wenn ihnen Ammoniaksalze verhältnissmässig einfach zusammengesetzter Säuren wie Aepfelsäure, Weinsäure, Citronensäure oder Kohlehydrate als Nahrung geboten werden. Andere Spaltpilze ernähren sich ähnlich den thierischen Organismen von complexen Eiweisssubstanzen, wobei sie den zur Oxydation nöthigen Sauerstoff entweder aus der Luft oder aus dem Nährsubstrat selbst entnehmen.

Wir finden bei diesen chlorophyll- und hämoglobinlosen Organismen die grösste Mannigfaltigkeit im Stoffwechsel, einerseits nach dem Typus der pflanzlichen, andererseits nach dem Typus der thierischen Organismen, mit allen möglichen Zwischenformen, unter welchen die Anaërobiose — das charakteristische Kennzeichen aller echten Gährungen — mit die interessanteste Form des Stoffwechsels ist. Hervorheben möchte ich noch, dass die chemische Zusammensetzung der Leibessubstanz dieser Organismen nicht allein bei verschiedenen Species sehr verschieden ist, sondern auch bei einer und derselben Species je nach den verschiedenen äusseren Lebensbedingungen sehr variiert. Auch ist in keiner Classe der organischen Wesen der Wechsel der Form so gross, als wie bei diesen sogenannten niederen Organismen. Ich erinnere nur z. B. an das von Szpilman[1]) studirte verschiedene Wachsthum der Milzbrandbacillen in verschiedenen Gasen; an das von Koch entdeckte Auswachsen dieser Bacillen zu sporenführenden Mycelfäden und an den asporogenen Milzbrand von Roux. Solcher Beispiele giebt es Hunderte. Sie zeigen alle, dass die Bildung neuer Arten hier viel leichter stattfindet, als wie bei den in späteren Zeitperioden entstandenen, complicirter gebauten Organismen. Wir haben Grund, anzunehmen, dass diese Lebewesen, welche relativ mit den einfachsten Mitteln die organische Materie aus Kohlensäure, Wasser und Ammoniak aufbauen,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 350. — Nencki's Opera omnia **1**, 523.

mit zu den ältesten Bewohnern unserer Erde gehören. Es ist interessant zu sehen. wie die pflanzlichen Organismen eines besonderen Stoffes, nämlich des Chlorophylls, bedürfen, um unter Mitwirkung der Sonnenstrahlen die Kohlensäure in Stärke umzuwandeln. Aus der Muttersubstanz des Chlorophylls entsteht dann in einer viel späteren Periode im Thierkörper der Blutfarbstoff, dessen Function eine viel beschränktere ist, da er nur dazu dient, den Luftsauerstoff locker zu binden und ihn den Zellen der einzelnen Organe zu überbringen. Das Chlorophyll ist übrigens nicht nur den Pflanzen eigen. Wir finden es bei vielen Protozoen und niederen Thieren. Bekanntlich fand K. Brandt bezüglich der in zahlreichen Protozoen, einigen Coelenteraten, sowie mehreren Planarien abgelagerten chlorophyllhaltigen Körper, dass dieselben nicht vom Thiere selbst erzeugt sind, sondern als besondere Organismen, einzellige Algen, aufgefasst werden müssen, die morphologisch und physiologisch unabhängig von ihren Wirththieren sind. Die grünen Zellen solcher Thiere besitzen die Fähigkeit, nach dem Tode ihres Wirthes in isolirtem Zustande fortzuleben. Brandt nennt diese Algen Zoochlorellen. Sie ernähren ihren Wirth vollständig. Wenn der Wirth wenig oder gar keine Zoochlorellen enthält, so ernährt er sich als echtes Thier durch Aufnahme organischer Stoffe. Sobald die Wirthe genügende Mengen dieser grünen Algen enthalten, dann ernähren sie sich vermöge derselben wie echte Pflanzen durch Assimilation von anorganischen Körpern. Brandt folgert daraus, dass die grünen Körper der Thiere ihrer physiologischen Bedeutung nach den Chlorophyllkörnern der Pflanzen entsprechen, während sie in morphologischer Hinsicht von denselben scharf zu unterscheiden sind.

Die Untersuchungen Brandt's wurden von anderen Forschern wie: Géza-Entz, G. Kessler, O. Hamann, P. A. Dogear und Remy Saint-Loup bestätigt. Dagegen bemerkt Th. W. Engelmann[1]), dass er schon vor vielen Jahren grüne Vorticellinen aufgefunden habe, welche nicht durch Chlorophyllkörner gefärbt, sondern diffus grün waren, und zwar war der Farbstoff auf die Cuticula und subcuticulare Schicht beschränkt. Engelmann konnte nachweisen, dass diese Vorticellinen durch ihren diffus vertheilten, nach mikrochemischen Reactionen höchst wahrscheinlich mit Chlorophyll identischen Farbstoff im Lichte Sauerstoff produciren, woraus hervorgeht, dass es unzweifelhaft auch Thiere giebt, welche mittelst eines an ihr eigenes lebendiges Protoplasma gebundenen, von Chlorophyll nicht unterscheidbaren Farbstoffs im Lichte wie grüne Pflanzen Kohlensäure zu assimiliren vermögen. Nach den späteren Untersuchungen Engelmann's[2]) giebt es auch Bacterien, von ihm Purpurbacterien genannt, deren Protoplasma durch einen rothen Farbstoff, das Bacteriopurpurin, diffus gefärbt ist, welche ähnlich wie die grünen Pflanzen im Lichte Sauerstoff ausscheiden. Die Sauerstoffausscheidung ist absolut gebunden an die Gegenwart des Bacteriopurpurins im Protoplasma und ist Entwickelung, Wachsthum und Vermehrung der Purpurschizomyceten auf die Dauer nur im Lichte möglich.

Wie es chlorophylllose Pflanzen giebt, so giebt es bekanntlich im Thierreiche ganze Classen, die kein rothes Blut haben. Bei den Insecten, wo die Luft in den Tracheen

[1]) Pflüger's Archiv **32**, 80 (1883).

[2]) Ibid. **42**, 183 (1888).

den ganzen Körper durchdringt, ist der Sauerstoffüberträger überflüssig. Das Blut des Rückengefässes ist farblos und enthält in grosser Zahl farblose Körperchern. Bei den Coelenteraten, Ascidien und acephalen Mollusken finden wir statt rothen Blutes eine farblose Flüssigkeit, mehr oder weniger gelöste Eiweissstoffe und zellige Elemente enthaltend. Bei vielen Cephalopoden, Gastropoden und Crustaceen enthalten die Blutgefässe einen farblosen Eiweisskörper, der an der Luft bläulich wird — das Hämocyanin — und welchem Körper respiratorische Bedeutung zugeschrieben wird. Ueber seine Zusammensetzung sowie über die Zusammensetzung des von Ray-Lankester bei einigen Anneliden aufgefundenen Chlorocruocins wissen wir trotz der Analysen und Formeln von Griffiths so gut wie gar nichts. Mac-Munn in Uebereinstimmung mit anderen Autoren giebt an, dass das Hämocyanin im Spectrum keinen Absorptionsstreifen zeigt, dagegen zeichnet sich das Chlorocruocin durch Absorptionsbänder aus und steht dem Hämatin nahe. Von letzterem Autor wurde in der Perivisceralflüssigkeit von Echinus noch ein anderer respiratorischer Farbstoff gefunden, den er Echinochrom nennt. Erst bei den Würmern und bei allen Wirbelthieren finden wir rothes, hämoglobinhaltiges Blut.

So weit wir die Rolle der rothen Blutzellen kennen, ist ihre Aufgabe eine recht beschränkte. Sie besorgen den Transport des Sauerstoffs zu den Geweben, während die Aufgabe der weissen Blutzellen der Transport an bestimmte Orte der in thierischen Säften unlöslichen Nahrungsstoffe und anderer Substanzen, wie Fett, einzelner Farbstoffe, Fremdkörper, Bacterien u. s. w., ist. Je höher und mehr differenzirter ein Organismus ist, um so grösser ist die Arbeitstheilung zwischen den verschiedenen, den Organismus zusammensetzenden zelligen Elementen.

Aus dem Mitgetheilten geht also hervor, dass es in der organisirten Welt zahlreiche Beispiele giebt, wonach die Reduction der Kohlensäure zu organischer Materie und die Oxydation der letzteren zu Kohlensäure ohne Chlorophyll resp. Hämoglobin geschieht; dass ferner bei den extremen Repräsentanten des Pflanzenreichs, den Blattpflanzen, und andererseits den rothes Blut führenden Thieren aus einer und derselben Muttersubstanz einerseits das Chlorophyll, andererseits das Hämoglobin aufgebaut werden. Es wäre zu verfrüht, allzu weite Consequenzen aus diesen Thatsachen zu ziehen. Ich hielt es aber für zweckmässig, dieselben hier anzudeuten, um die Aufmerksamkeit der Chemiker auf dieses wichtige Forschungsgebiet zu lenken. Sowohl das Hämoglobin-, wie das Chlorophyll-Molekül sind ziemlich weit abgebaut worden, und auf den Abbau eines Moleküls wird bekanntlich bei den Chemikern der Wunsch nach seiner Synthese bald rege. Dass dabei eine Reihe neuer Gesichtspunkte sich eröffnen wird, ist selbstverständlich.

Die Frage, woraus das Hämatoporphyrin im Thierkörper entsteht, habe ich vor Kurzem in diesen Berichten erörtert [1]) und darauf hingewiesen, dass bei der Spaltung des Eiweisses durch das pankreatische Ferment eine schon von Gmelin beobachtete, mit Brom ein rothes Substitutionsproduct liefernde Substanz entsteht, die von Stadelmann Proteïnochromogen genannt wurde. Ich zeigte, dass die procentische Zusammensetzung des Hämatoporphyrins, namentlich aber der thierischen Melanine,

[1]) Ber. 28, 560. — Dieser Band S. 509.

ziemlich nahe der procentischen Zusammensetzung des Proteïnochromogens steht, und dass möglicherweise aus dieser Substanz im Thierkörper der Blutfarbstoff, der Gallenfarbstoff und die melanotischen Pigmente entstehen. Sollte sich diese Hypothese bestätigen, dann wäre es auch für das Chlorophyll wahrscheinlich, dass in der Pflanzenzelle erst durch Hydrolyse des Eiweissmoleküls die chromogene Gruppe entsteht, aus welcher dann weiter das Chlorophyllmolekül aufgebaut wird.

Petersburg, im November 1896.

Verdauung ohne Mitwirkung von Mikroorganismen

von

M. Nencki.

Vortrag, gehalten von Prof. Nencki in der russischen Aerztegesellschaft zu Petersburg am 11. Januar 1896. Aus dem russischen Referate übersetzt. Труды Общества Русс. Врачей (1896).

M. H.! Es ist eine allgemein bekannte Thatsache, dass in unserem Verdauungscanal von der Mundhöhle bis zum Mastdarm Mikroorganismen vorhanden sind. Die Frage über die Rolle, welche diese Mikroorganismen im Verdauungsprocess spielen, ist Object meiner Studien während 20 Jahren gewesen. Schon in meinen ersten Mittheilungen machte ich die Aerzte auf jene Veränderungen der Nährstoffe in unserem Darmcanal aufmerksam, die theils unter dem Einflusse der Verdauungssäfte, teils unter der Wirkung der Mikroorganismen zu Stande kommen. Seitdem haben wir uns zur Aufgabe gestellt, nachzuweisen, in wiefern sich die Verdauungssäfte und die Mikroorganismen an dem Verdauungsprocess betheiligen. Zuerst gelang es uns, festzustellen, dass die Hauptarbeit unseres Darmcanals darin bestehe, die unlöslichen Bestandtheile der aufgenommenen Nahrung in lösliche umzuwandeln, welche vom Organismus gebraucht und assimilirt werden können. Die Thätigkeit der Mikroorganismen äussert sich darin, dass sie die unlöslichen Eiweissstoffe in lösliche Substanzen, namentlich in Albumosen, Peptone u. s. w. verarbeiten; ausserdem — und das ist für die Mikroorganismen charakteristisch — wandeln sie die unlöslichen Kohlehydrate in lösliche zuckerartige Stoffe um. Damit ist aber die Thätigkeit der Mikroorganismen noch nicht erschöpft. Da diese Mikroorganismen zu den anaëroben gehören, so bilden sich im Verdauungstractus verschiedene Gase, vorzugsweise Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Methan, Mercaptan, flüchtige Fettsäuren und aromatische Substanzen (Phenol, Kresol, Indol, Skatol). Allein alle diese Producte sind für den Organismus kaum nützlich; wir wissen z. B., dass mehrere derselben gerade schädlich auf den Organismus wirken.

Somit haben wir im Allgemeinen die Wirkung der Verdauungssäfte im Verdauungsprocess von derjenigen der Mikroorganismen getrennt.

Im Jahre 1885 machte Duclaux folgenden Versuch: Er fügte zu völlig steriler

Erde ein gewisses Quantum von Pepton, Albumose, Milch und anorganischen Salzen, die als notwendiger Bestandtheil der Pflanzennahrung gelten, hinzu und zeigte, dass unter solchen Bedingungen alles Pflanzenleben erlösche. Duclaux stellte Versuche mit Erbsen und anderen Pflanzen an und überzeugte sich, dass die Pflanzen zu wachsen aufhören, sobald sie in einen völlig sterilen Nährboden versetzt werden. Die Pflanzen nehmen Stickstoff aus solchen Verbindungen auf, wie Ammoniak und Salpetersäure, kurzum sie gebrauchen diejenigen einfachen Verbindungen, welche sie assimiliren und in complicirtere umzuwandeln im Stande sind. Giebt man ihnen statt der einfachen Substanzen, die sich im Dünger befinden, complicirtere — wie beispielsweise Eiweiss und Kohlehydrate —, so können die Pflanzen nicht gedeihen. Auf Grund dieser Versuche zieht Duclaux den Schluss, dass ohne Mitwirkung von Bacterien kein Leben möglich sei. Obschon er diesen Satz keineswegs für eine streng bewiesene Thatsache hält, so glaubt er dennoch, dass derselbe für das Thierleben gültig sei, d. h., dass ohne Mitwirkung der Mikroorganismen die Thiere kaum existiren können, weil dieselben zur Zersetzung der aufgenommenen Nahrung unbedingt nöthig seien.

Was mich nun anbetrifft, so kann ich auf Grund zahlreicher Experimente, die ich und meine Mitarbeiter angestellt haben, behaupten, dass „la vie serait plus facile et plus agreable“, wenn der Mensch der Mithülfe der Mikroorganismen bei der Verdauung entbehren könnte. Ich hatte Gelegenheit, viele Beobachtungen in dieser Richtung zu machen und glaube kaum, dass die Thätigkeit der Bacterien für die Verdauung von Nutzen ist; oft nehmen sie an diesem Process lebhaften Antheil, doch kann man nicht behaupten, dass diese Mitwirkung nützlich sei.

Es steht fest, dass die Säure, die vom Magen abgesondert wird, auf die Mikroorganismen eine schädliche Wirkung ausübt, denn mehrere von ihnen gehen bekanntlich im Magen zu Grunde. Im Dünndarm erfolgt in Wirklichkeit die Zersetzung eines Theiles der aufgenommenen Nahrung durch die Thätigkeit der Mikroorganismen und zwar derjenigen, welche die Kohlehydrate und die zuckerhaltigen Stoffe zu zersetzen pflegen; dabei entstehen aus dem Zucker active und inactive Milchsäure, Bernsteinsäure, Alkohol und andere Producte der Zuckerzersetzung. Im Dickdarm erfolgt die Zersetzung der Eiweissstoffe unter Bildung von Ammoniak, Ammoniakderivaten, Fettsäuren, Producten der aromatischen Reihe, Phenol, Indol, Skatol und Gasen, wie Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff und Mercaptan.

Bei den weiteren Versuchen ergiebt sich ferner, dass sich die Mikroorganismen bei der Zersetzung der Nahrung im Magen sehr wenig betheiligen. Im Dünndarm entwickeln sich die Mikroorganismen schwach, denn der Inhalt zeigt in diesem Darmabschnitte eine saure Reaction, obschon die Secrete der Dünndarmschleimhaut alkalisch reagiren. Im Dickdarm zeigen die Schleimhaut sowie der Darminhalt ebenfalls eine alkalische Reaction; in diesem Abschnitt des Darmes erfolgt die Zersetzung der Eiweissstoffe unter Mitwirkung der Mikroorganismen. Somit ist es klar, dass die Mikroorganismen nur im Dickdarm eine wesentliche Rolle spielen.

Wir haben Gelegenheit gehabt, eine Frau zu beobachten [1]), welche an einer

[1]) Siehe diesen Band S. 183.

anus praeter naturalis (Fistula) in der Nähe der Valvula Bauhinii litt. Diese Frau lebte ein halbes Jahr unter Ausschaltung der Dickdarmthätigkeit und in diesem Falle konnte man beobachten, welche Producte sich dabei im Dünndarm und welche sich im Dickdarm bildeten, ausserdem konnte man noch feststellen, welches Quantum der aufgenommenen Nahrung resorbirt wurde.

Ein zweiter Fall wurde von Dr. Jakowski[1]) in Warschau beschrieben. Dr. Jakowski beobachtete auch eine Frau mit einer Fistel anus praeter naturalis, in der Nähe der Valvula Bauhinii, welche in Folge eines Abscesses entstanden ist. Die Fistel existirte 35 Jahre. Die betreffende Frau verheirathete sich, hatte mehrere Kinder, und entschloss sich erst nach 35 jähriger Dauer der Fistel sich einer Operation zu unterziehen. Während der Operation constatierte man, dass der Dickdarm eine völlige Atrophie erlitten hatte. Dr. Jakowski zog in Folge dessen den Schluss, dass man ohne Thätigkeit des Dickdarmes ganz gut existiren könne, wobei die Mitwirkung der Mikroorganismen natürlich vollständig ausgeschlossen ist.

Die schwierige Frage wurde endlich mit Erfolg von Dr. George H. F. Nuttall und H. Thierfelder gelöst. Die Schwierigkeit lag darin, dass es nicht gut möglich war, die betreffenden Versuche anzustellen. Das gewöhnliche Object, mit welchem sich am besten experimentiren lässt, namentlich das Hühnerei, konnte für diese Versuche nicht benutzt werden, da es meistentheils nicht steril ist. H. F. Nuttall und H. Thierfelder benutzten für ihre Versuche das Meerschweinchen, weil es von der Geburt an Kuhmilch gut verträgt. Es wurde die Sectio caesarea an einem schwangeren Meerschweinchen ausgeführt; das Junge wurde herausgeholt und unter die streng sterilisirte Glocke eines complicirten Apparates gebracht. Während einer Woche fütterte man das Junge mit sterilisirter Milch. Die Einrichtung des betreffenden Apparates zu schildern gehört nicht in den Rahmen dieses Vortrages; ich möchte nur bemerken, dass alles mit grösster Sorgfalt eingerichtet war. Nach der Geburt gab man dem Jungen während neun Stunden keine Nahrung; darauf erhielt es ein bestimmtes Quantum Milch jede Stunde bei Tag und Nacht. Nach acht Tagen tödtete man das neugeborene Meerschweinchen, welches 10 g an Gewicht zugenommen hatte. Bei der Section ergab sich Folgendes: alle Organe zeigten keine Abweichung vom normalen Bau und waren dabei völlig steril; somit musste man das Thier als ein völlig normales Wesen betrachten. Es wurden Impfungen mit Material aus verschiedenen Abschnitten des Verdauungsapparates — aus der Mundhöhle, aus dem Magen u. s. w. — vorgenommen und es ergab sich ein negatives Resultat: man konnte keine Bacterien entdecken. Es sind nachher verschiedene gefärbte und ungefärbte Präparate hergestellt worden, die man sorgfältig untersuchte, und doch kam kein einziger Mikroorganismus unter dem Mikroskope zu Gesicht.

Aus diesen Experimenten lässt sich der Schluss ziehen, dass zur Erhaltung des Thierlebens, wenigstens bei normaler Ernährung, die Mitwirkung der Mikroorganismen nicht notwendig ist. Ich gestattete mir, Ihnen diesen Versuch von H. F. Nutall und H. Thierfelder zu schildern, weil er am klarsten beweist, dass das Leben ohne Mitwirkung von Mikroorganismen ganz gut möglich ist.

---

[1]) Dieser Band S. 264.

Auf Grund des oben geschilderten Versuches kann man behaupten, dass die Anwesenheit der Bacterien im Verdauungstractus nicht ein malum necessarium, sondern ein malum inevitabile ist. Die Frage in Bezug auf vegetative Ernährung ist noch nicht gelöst. Obschon die richtige Antwort mit mehreren Schwierigkeiten verbunden ist, so denke ich doch, dass die Mikroorganismen hier ebenfalls als Parasiten zu betrachten sind. Vielleicht gelingt es im Laufe der Zeit, uns von der Anwesenheit der Mikroorganismen zu befreien. Auf jeden Fall steht die Thatsache fest, dass man ohne Mikroorganismen existiren kann und dass sie nicht als unsere Mitarbeiter, sondern als unsere Feinde zu betrachten sind.

Ueber Pentosurie

von

M. Nencki.

Vortrag, in derselben Gesellschaft gehalten. Aus dem Russischen übersetzt. Ibidem.

Meine zweite Mittheilung berührt eine ganz andere Frage — ich möchte nämlich noch einmal an den nahen Zusammenhang zwischen der Chemie und der praktischen Medicin erinnern. In dieser Mittheilung will ich „über Pentosurie" sprechen. Damit möchte ich auf diejenigen Erkrankungen aufmerksam machen, bei denen im Harne des betreffenden Kranken ein Stoff vorhanden ist, welchen wir vorläufig als gewöhnlichen Traubenzucker zu betrachten pflegten. Es ist eine allgemein bekannte Thatsache, dass man die Anwesenheit des Zuckers im Harne mit Hülfe der Trommerschen Probe nachweist, welche auf Bildung von Kupferoxydul — eines rothen Niederschlages — beruht.

Aus den Arbeiten des berühmten Chemikers Prof. Fischer wissen wir, dass es mehr Zuckerarten giebt, als man früher angenommen hatte. Die Benennung Kohlehydrate setzt voraus, dass je 6 Atome Kohlenstoff mit 12 Atomen Wasserstoff und 6 Atomen Sauerstoff in Verbindung treten, was jedoch ganz falsch ist. Es gelingt, auf künstlichem Wege eine ganze Reihe von Zuckerarten herzustellen, welche 3, 5, 6, 7 und noch mehr Atome von Kohlenstoff enthalten. Heutzutage wissen wir, dass nicht bloss eine Zuckerformel, C_6, existirt, sondern dass es auch Formeln mit grösserer und kleinerer Atomzahl von Kohlenstoffen giebt. Vor dieser Entdeckung also war man überzeugt, dass sich im Harne nur Traubenzucker befindet. Es wurden zwar Fälle beschrieben, in welchen man im Harne auch Milchzucker fand, doch hatte man keine Ahnung davon, dass im Harne auch andere Zuckerarten mit verschiedener Anzahl von Kohlenstoffatomen vorhanden sein können. Durch die Arbeiten von Fischer und von physiologischen Chemikern wurde festgestellt, dass alle Aldosen dadurch gekennzeichnet sind, dass sie mit den Phenylhydrazinen krystallisirte Verbindungen eingehen und die sogenannten Osazone bilden, welche nach ihrem Schmelzpunkt bestimmt werden können.

Prof. Salkowski war der erste, welcher darauf aufmerksam machte, dass Kranke, die an Glycosurie leiden, in ihrem Harne auch zweifellos Pentose besitzen, die sich mit Hülfe bestimmter Reactionen nachweisen lässt. Man verabreichte den betreffenden Kranken gewöhnlichen Zucker, und es vermehrte sich die Menge des durch den Harn ausgeschiedenen Zuckers nicht. Salkowski machte bei diesen Kranken die Beobachtung, dass der Zucker, welcher sich in ihrem Harne befand, bei Weitem nicht die gleichen Reactionen zu zeigen vermochte, wie der gewöhnliche Zucker. Aus den Versuchen von Fischer wissen wir, dass man jede Zuckerart mit Hülfe der Phenylhydrazinprobe nachweisen kann, indem man das entsprechende Osazon herstellt. Auf diese Weise überzeugte sich Salkowski, dass sich dabei eine Pentose bildet, deren Eigenschaften schwer zu bestimmen waren. Somit wird die Frage aufgeworfen, welche Bedeutung der im Harne neu entdeckten Zuckerart zukommt?

Diese Frage ist deshalb von Interesse, weil fast zu gleicher Zeit, als Salkowski die Beobachtung machte, dass die Pentosen schon im Harne nachzuweisen sind in denjenigen Fällen, wo nach den undeutlichen Symptomen Diabetes mellitus vermutet wurde, — Hammarsten fand, dass beim Aufkochen der Bauchspeicheldrüse in Wasser sich ein Eiweissstoff ausscheidet, welcher seiner sauren Natur nach zu den Nucleinkörpern gehört. Erhitzt man diesen Nucleinkörper mit Salzsäure, so zerfällt er einerseits in einen Eiweisskörper, andererseits bildet sich eine Zuckerart, die man auf Grund ihres Schmelzpunktes als eine Pentose betrachten muss. Daraus folgt, dass sich aus der Bauchspeicheldrüse durch Zersetzung des Nucleins eine Pentose bildet. Das Vorkommen der Pentose im Harne beweist uns, dass wahrscheinlich ein Zusammenhang zwischen der Erkrankung der Bauchspeicheldrüse und dem Erscheinen der Pentose im Harne existirt. Freilich ist diese Frage noch nicht völlig gelöst; ich wollte bloss die Aufmerksamkeit der werthen Gesellschaft darauf lenken, dass bei derartigen Krankheiten stets der Harn untersucht werden muss. Mit Hülfe der Phenylhydrazinprobe sind wir stets im Stande, die Natur des Zuckers festzustellen. Diese Frage ist im Allgemeinen nicht von geringer Bedeutung; in den einzelnen Fällen spielt sie ebenfalls eine wichtige Rolle, z. B. im Falle von Lebensversicherung ist es für den Kranken ebenso wie für die Versicherungsgesellschaft wichtig, genau festzustellen, ob es sich um Diabetes mellitus oder um die gewöhnliche Pentosurie handelt, weil die Bedeutung der letzteren uns vorläufig noch nicht genau bekannt ist. Salkowski hatte nun Gelegenheit, die Pentosurie in drei Fällen zu constatiren, nämlich bei Morphiumsüchtigen und Neurasthenikern. Allein Pentose kann gleichzeitig mit dem Traubenzucker im Harne vorhanden sein — einen derartigen Fall beschrieb Salkowski. Deshalb theilen wir die Fälle von Pentosurie in Fälle von reiner Pentosurie und in diejenigen, welche mit Hexosurie verbunden sind.

Wir wissen, dass Hammarsten die Beobachtung machte, dass bei der Zersetzung des Nucleoproteïns Pentose in der Leber und in der Milchdrüse nachgewiesen werden kann; gut möglich ist es ferner auch, aus allen Schleimdrüsen, den Speicheldrüsen, ebenso wie aus den Drüsen des Darmes und des Magens, eine Zuckerart herzustellen, die nicht als gewöhnliche Glucose, sondern als Pentose, oder Hexose, oder Tetrose gelten würde. Somit gehört es zur Aufgabe der physiologischen Chemie und

der Kliniker, Untersuchungen vorzunehmen, um die Art des im Harne vorkommenden Zuckers festzustellen. Ich wiederhole noch einmal, dass man vorläufig auf Grund der im Harn entdeckten Pentose die genaue Diagnose in Bezug auf Erkrankung der Bauchspeicheldrüse nicht stellen darf. Ob man in jedem betreffenden Fall mit einer entsprechenden Erkrankung der Bauchspeicheldrüse zu thun hat, müssen die Aerzte und die Kliniker entscheiden. Ich wollte durch gegenwärtige Mittheilung bloss die Aufmerksamkeit der werthen Gesellschaft auf diesen Gegenstand lenken.

Ueber den Zucker der schleimigen Substanzen des thierischen Organismus

von

M. Jacewitch.

Arch. des sciences biolog. **5**, 379. — Inaug.-Dissert. Petersburg im Jahre 1897. — Nach dem Referate von Dr. A. Walther abgedruckt. Maly's Jahresber. **26**, 8.

Anlässlich eines Falles von Pentosurie, den Prof. M. Nencki in St. Petersburg beobachtet hatte, wurde die Frage aufgeworfen, ob das Pankreas als einzige derzeit bekannte Quelle der Pentosen anzusehen sei, oder ob sich aus den Speicheldrüsen und der Schleimhaut des Magen-Darmtractus ebenfalls Pentosen darstellen liessen. Aus den Submaxillardrüsen (4 Versuche), der Schleimhaut des Labmagens (3 Versuche) und des Dünndarms (3 Versuche) vom Rinde wurde das thierische Gummi Landwehr's dargestellt. Die zerkleinerten Organe wurden im Papin'schen Kochtopf mit Wasser gekocht, colirt, abgepresst, die vereinigten Extracte schwach mit Essigsäure angesäuert und unter Zusatz von wenig Ferrumsesquichlorat durch Sieden vom Eiweiss befreit, das Filtrat mit dem gleichen Volum 80 proc. Alkohols versetzt. Aus dieser Flüssigkeit wurde das Kohlehydrat als Eisenverbindung durch Zusatz passender Mengen von Ferrumsesquichlorat und Calciumcarbonat gefällt, der Niederschlag wiederholt mit Wasser ausgekocht und unter Abkühlung in concentrirter Salzsäure gelöst, aus der Lösung wurde das Kohlehydrat durch Zusatz von drei Volumen Alkohol gefällt und als weisse, klebrige, in Wasser lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche Substanz erhalten, welche Kupferoxyd nicht reducirte, von Jod nicht gefärbt wurde und, entgegen Landwehr, stets Stickstoff enthielt. Beim Kochen dieser Substanz mit 2 Proc. Schwefelsäure wurde ein (inconstant) schwach rechtsdrehendes Kohlehydrat erhalten, welches Kupferoxyd reducirte, die Tollens-sche Phloroglucinreaction auf Pentosen jedoch nicht gab. Die nach Laves dargestellten Osazone zeigten ohne Unterschied der Provenienz des thierischen Gummi annähernd gleiche Eigenschaften: sie krystallisirten in gelben, zu Drusen gruppirten Nadeln und Blättchen, waren in kaltem Wasser schwer löslich, löslich in warmem Wasser und Alkohol, schwerer in Aceton, unlöslich in Aether. Der Schmelzpunkt der aus Aceton unkrystallisirten Präparate lag bei schnellem

Erwärmen bei 185° C. — In drei weiteren Versuchen wurde der Organbrei (1. Gl. submaxillaris, 2. Magenschleimhaut, 3. Darmmucosa) direct mit 3 Proc. Schwefelsäure anhaltend gekocht, bis die Flüssigkeit Kupferoxyd stark reducirte; filtrirt mit Thierkohle entfärbt und enteiweisst und auf Pentosen geprüft, wobei stets ein negatives Resultat erhalten wurde. Die Flüssigkeit, ausgenommen die bei der Verarbeitung der Darmschleimhaut erhaltene, war rechtsdrehend und gab dieselben Osazone, wie sie aus dem thierischen Gummi dargestellt waren. Die Ausbeute der Osazone war gering; auf etwa 500.0 Organ wurden 0.18 bis 0.38 Osazon erhalten. Submaxillarismucin, nach Hammarsten bereitet, gab bei derselben Behandlung ebenfalls keine Pentosen und das nämliche Osazon. — Aus diesen Versuchen schliesst Verf., dass sich aus dem untersuchten Material keine Pentosen, wohl aber ein einheitliches, rechtsdrehendes, reducirendes, nicht vergährbares Kohlehydrat darstellen lässt, welches mit Phenylhydrazin ein bei 185° C. schmelzendes Osazon giebt. Der Stickstoffgehalt des Osazons berechnet sich im Mittel aus drei Bestimmungen nach Dumas zu 15.65 Proc., was dafür spricht, es als Glycosazon und das Kohlehydrat als Hexose anzuerkennen. Das nach Kueny aus dem Benzoylester rein dargestellte Kohlehydrat bildete eine syrupöse, wenig Krystalle enthaltende Masse, rotirte nicht und gab die Lassaigne'sche Stickstoffreaction. Verf. hält dieses Kohlehydrat für identisch mit der Mucose Müller's.

Das Antistreptococcen- und Antistaphylococcenserum

von

N. Sieber.

Arch. des sciences biolog. **4**, 415. — Nach dem Referate von Dr. A. Walther abgedruckt. Maly's Jahresber. **26**, 994.

Verf. immunisirte zwei Ziegenböcke (Gewicht 26.8 kg und 38.5 kg) durch subcutane Injection steigender Mengen von äusserst virulenten Streptococcenculturen; zu der ersten Injection wurden die Culturen zu gleichen Theilen mit Lugol'scher Jod-Jodkalilösung versetzt. Im neunten Monate nach Beginn der Immunisation wurde das Serum gewonnen; der grössere Ziegenbock hatte zu dieser Zeit 280 ccm Culturen erhalten, der kleinere 309 ccm. Die immunisirende Kraft des Serums des ersten Thieres war = 1 : 10000, die des Serums des zweiten Thieres = 1 : 15000.

Zwei Pferde, welche auf ähnliche Art immunisirt wurden, gaben nach fünf Monaten, während welcher Zeit ein jedes Thier in 15 Injectionen etwa einen halben Liter Culturen erhalten hatte, ein Serum von der Immunisationskraft 1 : 4000, bezw. 1 : 8000; bei dem Versuche, die Dosis der eingeführten Culturen zu steigern, fiel das eine Thier, während das andere am Leben blieb und beim zweiten Aderlass ein Serum von der Kraft 1 : 15000 gab.

Ausserdem wurde eine Ziege durch Einführung virulenter Staphylococcenculturen immunisirt. In sechs Monaten erhielt das Thier 241 ccm Culturen und lieferte ein Serum von der Heilkraft 1:9000. Verf. hält die Ziege für besonders geeignet zur Gewinnung von Staphylococcen- und Streptococcen-Heilserum. Nach Verf. sind die Streptococcen verschiedener Herkunft unter einander nicht identisch, sondern Varietäten der Species „Streptococcus“.

Ueber den Gehalt an Antitoxin in den Körperflüssigkeiten und den einzelnen Organen der gegen Diphtherie immunisirten Pferde

von

S. Dzierzgowski.

Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **38**, 186. — Arch. des sciences biolog. **5**, 123. — Gazeta Lekarska (1897), Nr. 5. — Nach dem Referate von Dr. M. Hahn abgedruckt. Maly's Jahresber. **27**, 912.

Um den Ort der Antitoxinbildung im Organismus zu ermitteln, untersuchte Verf. zunächst die verschiedenen Bestandtheile des Pferdeblutes auf ihren Antitoxingehalt. Fibrin enthielt kein Antitoxin, Plasma und Serum wiesen den gleichen Gehalt auf bei der Prüfung am Meerschweinchen mittelst der Ehrlich'schen Mischmethode, die hier überall angewandt wurde. Rothe und weisse Blutkörperchen, die isolirt geprüft wurden, zeigten nur minimale Antitoxinwerthe. Dem Serum stehen in Bezug auf den Antitoxingehalt am nächsten die Flüssigkeit der Graaf'schen Follikel und Saft aus solchen Muskeln, in welchen durch vorhergehende Giftinjection (zum Zwecke der Immunisirung) Infiltrationen hervorgerufen waren. Diese letztere Thatsache spricht nach Verf. besonders dafür, dass sich das Antitoxin direct aus dem Toxin bildet. Der Muskelsaft wurde, wie die Auszüge aus den anderen Organen, durch Auspressen der entbluteten und zerkleinerten Theile mittelst der hydraulischen Presse gewonnen. Am meisten Antitoxin enthielten nach dem Serum die Nieren, in absteigender Reihe folgen Nebennieren, Speichel- und Lymphdrüsen, dann die Leber, Milz, Schilddrüse, die Muskeln, das Rückenmark, Gehirn und Knochenmark. Ueber den Ort der Antitoxinbildung lässt sich nach den vorliegenden Untersuchungen nichts Sicheres aussagen. Der Urin und Schweiss der immunisirten Pferde enthalten stets kleine Mengen von Antitoxin. Verf. nimmt an, dass sich das Antitoxin durch Oxydation aus dem Toxin im Organismus bilde und nur sehr langsam mit dem Urin und Schweiss wieder ausgeschieden werde.

Beiträge zur Herstellung der Heilsera

von

S. Dzierzgowski.

Arch. des sciences biolog. 4, 454. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. empfiehlt, aus dem Blute zuerst das Plasma zu gewinnen; dazu wird das Blut sofort nach seinem Herauslassen aus der Ader an einem kalten Orte bei 0° stehen gelassen. Die rothen Blutkörperchen setzen sich dabei nieder und das Plasma lässt sich leicht abgiessen. Dann setzt man ihm 0.5 Proc. Carbolsäure zu und lässt das Fibrin durch Erwärmen auf 25° abscheiden. Gewonnenes Serum wird durch Chamberland'sche Kerzen filtrirt. Im zweiten Theil seiner Arbeit giebt Verf. genaue Beschreibung der Instrumente und des Operationsvorganges bei den Blutentnahmen von Pferden.

Ueber das Diphtherietoxin und Antitoxin

von

P. Nikanorow.

Врачъ (1896), Nr. 31. — Nach dem Referate von Dr. A. Walther abgedruckt. Maly's Jahresber. 26, 983.

Die Arbeit hat die Frage von der Wechselwirkung zwischen Toxin und Antitoxin zum Gegenstand und zerfällt in zwei Versuchsreihen, in deren erster das Verhalten von Gift und Gegengift bei Vermengung in vitro, in deren zweiter ihr Verhalten bei Vermengung im thierischen Organismus untersucht wurde. — Wenn man eine Lösung von Diphtherietoxin mit einer geeigneten Menge einer einprocentigen Lösung von Cuprum aceticum versetzt, den Niederschlag abfiltrirt, auswäscht, mit Hülfe von Natriumcarbonat in Lösung bringt und Kohlensäure zur theilweisen Ausfällung des Kupfers und des Eiweisses durchleitet, so erhält man eine Flüssigkeit, die auf Meerschweinchen keine toxische Wirkung ausübt. Wenn man dagegen in Diphtherieheilserum durch Cuprum aceticum einen Niederschlag hervorruft und ihn auf die angegebene Art verarbeitet, so erhält man eine Flüssigkeit mit ausgesprochen immunisirenden Eigenschaften. Das Filtrat von der Kupferfällung des Heilserums besitzt diese Eigenschaften ebenfalls, aber in geringerem Grade. Aus diesem Verhalten folgt, dass das Toxin durch Cuprum aceticum nicht, das Antitoxin aber grösstentheils gefällt wird. Wenn man nun Diphtherietoxin durch Vermengung

mit Heilserum in seinen toxischen Eigenschaften neutralisirt und das Gemenge auf obige Art mit Cuprumacetat fällt und weiter verarbeitet, so erhält man aus dem Niederschlag eine Flüssigkeit, welche wie das Antitoxin wirkt, besonders, wenn sie durch Aluminium vom Cu befreit wird, das Filtrat von der Kupferfällung wirkt dagegen schwach toxisch; schwach deshalb, weil der nicht gefällte Theil des Antitoxins das Toxin theilweise neutralisirt. Mithin kann man aus einem Gemenge von Toxin und Antitoxin durch geeignete Behandlung sowohl wirksames Toxin als auch Antitoxin darstellen, woraus sich schliessen lässt, dass Gift und Gegengift bei der Vermengung in vitro sich gegenseitig nicht zerstören und auch keine chemische Verbindung eingehen. — In einer zweiten Versuchsreihe wurde eine Ziege durch steigende Mengen von Diphtherietoxin und Heilserum immunisirt; parallel wurde ein Ziegenbock durch Diphtherietoxin allein immunisirt. Das Serum der Ziege enthielt in 1 ccm 40 Immunisationseinheiten; das Serum des Ziegenbocks nur 10; mithin lässt sich durch gleichzeitige Anwendung von Toxin und Antitoxin eine stärkere Immunität erzielen, als durch das Toxin allein. Dieses spricht für eine Summation der Wirkung von Toxin und Antitoxin und schliesst eine Zerstörung des ersteren durch das letztere im Thierkörper aus. Weiter hat Verf. beobachtet, dass das Blutserum eines gegen Diphtherie immunisirten Pferdes schwächer war, als Serum, welches aus den weissen Blutkörperchen desselben Pferdes erhalten war. Mithin sind die weissen Blutkörperchen als Träger des Antitoxins anzusehen.

Ueber die Frage der Oxydation des Urobilins in Uroroseïn

von

S. Salaskin.

Arch. des sciences biolog. **5**, 375. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch. Maly's Jahresber. **28**, 275.

Nach Zawadzki[1]) geht Urobilin in alkalischer Lösung durch Calomel in Uroroseïn über, da die angesäuerte Lösung das Spectrum dieses Farbstoffes zeigt. Nach dem Verf. ist aber das Spectrum verschieden von dem des Uroroseïns; dasselbe Spectrum tritt auch auf, wenn man zur alkalischen Urobilinlösung Salzsäure ohne Calomel giebt; es rührt daher jedenfalls von einem aus Urobilin durch die Säure gebildeten Producte her.

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **28**, 450.

Wachholdertheer vom chemischen und bacteriologischen Standpunkte aus betrachtet

von

W. Schulz.

Arch. des sciences biolog. 5, 345. — Autoreferat.

Bei den chemischen Untersuchungen fand Verf. im Oleum Cadinum (specifisches Gewicht zwischen 0.983 und 0.9904 bei 15°) Essigsäure und deren Homologen (letztere nur in sehr geringer Menge), Phenole, Kohlenwasserstoffe, welche bei 210 bis 400° sieden (Hauptbestandtheil des Theers) und harzartige Producte. Der Gehalt an Säuren, auf Essigsäure berechnet, schwankte zwischen 0.459 bis 0.975 Proc.; bei der Destillation gingen 80.2 bis 90.9 Proc. über. Die Phenole bestanden wie die des Fichtentheers nur aus zweiwerthigen Phenolen und deren Derivaten: Guajacol und dessen Homologen. Es unterscheidet sich dadurch der Theer der Coniferen von den Theeren der Laubbäume, die aus Diphenolen und Derivaten der Triphenole mit kleinen Mengen von Monophenolen bestehen.

Die desinficirende Kraft des Wachholdertheers ist schwächer als die der soeben genannten Theere.

1897

Ueber organische Synthesen durch Abspaltung von Halogenwasserstoff mittelst Eisenchlorid

von

M. Nencki.

Erste Mittheilung.

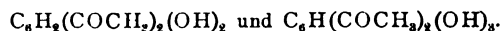
Ber. **30**, 1766. — Eingegangen am 12. Juli; mitgetheilt in der Sitzung von Herrn C. Liebermann.

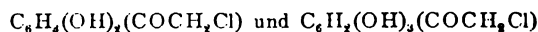
Seit der Einführung des Aluminiumchlorids durch Friedel und Crafts hat dieses Reagens in der Synthese organischer Verbindungen die allgemeinste und fruchtbarste Anwendung gefunden. Das dem Aluminiumchlorid so nahe stehende Eisenchlorid erwies sich, allerdings nach nur wenigen damit angestellten Versuchen, als schwächer wirkend, die Ausbeuten waren weniger günstig und nur für die Darstellung von Ketonsäureestern und Ketonen aus Fettsäurechloriden hat das Eisenchlorid Anwendung gefunden [1]. Im verflossenen Jahre habe ich meine Untersuchungen über die Synthesen von Oxyketonen wieder aufgenommen und dabei auch das sublimirte Eisenchlorid als Condensationsmittel angewendet. Die erhaltenen, in einigen Fällen sehr günstigen Resultate veranlassten mich, die Anwendung des sublimirten Eisenchlorids für organische Synthesen eingehender zu studiren. Gemeinschaftlich mit meinen Mitarbeitern, M. Bialobrzeski und E. Stoeber, habe ich in der aromatischen Reihe eine Anzahl von Verbindungen dargestellt und mich überzeugt, dass nicht allein verschiedene Synthesen mittelst Eisenchlorid fast quantitativ bewerkstelligt werden können, sondern es gelang uns, einzelne Verbindungen, wie z. B. Acetsalicylsäure, $C_6H_3(OH)(CO_2H)(COCH_3)$, darzustellen, welche ich bis jetzt auf andere Weise nicht erhalten konnte.

---

[1] Vgl. K. Elbs: Die synthetischen Darstellungsmethoden der Kohlenstoffverbindungen **2**, 172 und Hamonet, Ber. **22**, 766. Ref.

Nach meinen bisherigen Erfahrungen sind nur halogen-substituirte Verbindungen zu Synthesen mittelst Eisenchlorid geeignet. Aus Säurehydraten und Phenolen gelingt es nicht, Oxyketone darzustellen, wie dies z. B. aus Eisessig und Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol u. s. w. bei Anwendung von Chlorzink mir seiner Zeit gelungen ist. Für die meisten Synthesen ist auf ein Aequivalent des Phenols oder des Kohlenwasserstoffes 1 Aeq. des Eisenchlorids nöthig, wobei das letztere allmählich und in kleinen Portionen eingetragen wird. In einigen Fällen jedoch, wie z. B. bei der Darstellung von Butyltoluol aus Toluol und tertiärem Butylchlorid, genügt ein minimaler Zusatz von Eisenchlorid zu dem äquivalenten Gemisch beider Componenten, um eine stürmische Salzsäureentwickelung einzuleiten, wobei die Reaction mit fast quantitativer Ausbeute ohne weiteren Zusatz von Eisenchlorid sich vollzieht. Für mehratomige Phenole sind von dem Halogenradical so viel resp. mehr Aequivalente, als das Phenol Hydroxyle enthält, anzuwenden. So z. B., um das Acetphloroglucin = $C_6H_2(COCH_3)(OH)_3$ zu erhalten, sind auf 1 Aeq. Phloroglucin 4 Aeq. Acetylchlorid anzuwenden. Meistens findet schon beim Vermischen des Säurechlorids mit den Phenolen unter Erwärmung und Salzsäureentwickelung die Esterbildung statt. Erst beim Eintragen von Eisenchlorid entstehen die Ketone. Oefters ist es nöthig, durch Erwärmen auf dem Wasserbade die Reaction zu unterstützen. Nach vollendeter Einwirkung werden die entstehenden Ester der Ketone durch Kochen mit Wasser zerlegt. Wie mit Aluminiumchlorid, so auch hier, geben die Halogenradicale mit Kohlenwasserstoffen bessere Ausbeute wie mit Phenolen oder Carbonsäuren. Aus Nitrophenol und Acetylchlorid konnten wir direct kein Nitrooxyketon erhalten; wohl aber aus dem o- und p-Chlorphenol die entsprechenden gechlorten Oxyacetophenone. Auch hier, wie mit Aluminiumchlorid, reagiren die Säurechloride viel glatter, als die Chloralkyle. Eine Eigenthümlichkeit in der Wirkung des Eisenchlorids ist die, dass aus Säurechloriden und einigen Phenolen nicht Mono-, sondern Diketone entstehen. So erhielten wir aus Acetylchlorid und Resorcin resp. Pyrogallol nicht das Resacetophenon und Gallacetophenon, sondern das schon früher in meinem Laboratorium in Bern durch gleichzeitige Einwirkung von Chlorzink und Phosphoroxychlorid aus Eisessig und den respectiven Monoketonen von Herrn P. Crépieux[1]) dargestellte Reso- und Gallodiacetophenon:

$$C_6H_2(COCH_3)_2(OH)_2 \text{ und } C_6H(COCH_3)_2(OH)_3.$$

Ueberhaupt verhalten sich Säurehydrate resp. Säurechloride und Phenole gegen jedes der Condensationsmittel so zu sagen individuell. Aus Hydrochinon und Acetylchlorid haben wir beim Erhitzen mit Eisenchlorid nur den Ester, $C_6H_4(OCOCH_3)_2$, erhalten können, während beim Erhitzen von Hydrochinon mit Eisessig und Chlorzink das Chinacetophenon, $C_6H_3(COCH_3)(OH)_2$, von uns seiner Zeit erhalten wurde[2]). Ein weiteres Beispiel dafür ist das Verhalten der Phenole gegen Chloressigsäure. Mit Chloressigsäure und Phosphoroxychlorid erhitzt gehen Brenzcatechin und Pyrogallol in die entsprechenden gechlorten Ketone:

$$C_6H_3(OH)_2(COCH_2Cl) \text{ und } C_6H_2(OH)_3(COCH_2Cl)$$

[1]) Bull. soc. chim. (3) **6**, 151, 1891. — Dieser Band S. 253.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. **23**, 546. — Nencki's Opera omnia **1**, 593.

über [1]). Aus Phenol und Guajacol [2]) konnten wir unter gleichen Bedingungen nur die entsprechenden Ester erhalten. Resorcin lieferte ein harziges, fluorescirendes Product. Das über die Phenole und Säureradicale Gesagte gilt übrigens auch einerseits von den Kohlenwasserstoffen, Carbonsäuren u. s. w., andererseits von den damit zu combinirenden Radicalen. Wir können nicht mit Bestimmtheit voraussagen, welches Product aus gegebenen Componenten bei Anwendung des einen oder des anderen Condensationsmittels entstehen wird. In den folgenden Mittheilungen wollen wir die bis jetzt von uns mittelst Eisenchlorid erhaltenen Verbindungen näher beschreiben.

Ueber die Einwirkung der Säurechloride auf Benzol und die einatomigen Phenole bei Gegenwart von Eisenchlorid

von

M. Nencki und **E. Stoeber.**

Ber. 30, 1768; eingegangen am 12. Juni; vorgetragen in der Sitzung von Herrn Liebermann. — Ausführlich mitgetheilt in Inaug.-Dissert. von Herrn E. Stoeber, Petersburg.

Werden in ein Gemisch von 5 Gewichtsthln. Benzol und 7 Gewichtsthln. Benzoylchlorid 7 Gewichtsthle. sublimirten Eisenchlorids in kleinen Portionen eingetragen, so findet nach jedem Zusatz des Eisenchlorids eine lebhafte Entwickelung von Salzsäure statt und zuletzt erstarrt die Flüssigkeit krystallinisch. Durch Auswaschen mit Wasser und hierauf mit verdünnter Sodalösung werden aus dem Krystallkuchen das entstandene Eisenchlorür und die Benzoësäure entfernt, wobei eine ölige, in Wasser unlösliche Flüssigkeit hinterbleibt. Sie wurde im Scheidetrichter getrennt und mit Aether extrahirt. Nach dem Abdestilliren des Aethers wird der syrupöse, gefärbte Rückstand aus einem Fractionirkölbchen destillirt, wobei die über 200° aufgefangene Fraction meistens krystallinisch erstarrt. Durch nochmalige Destillation wird daraus reines Benzophenon, das bei 48° schmilzt und bei 279° siedet, erhalten. Die Elementaranalyse ergab darin 85.46 Proc. C und 5.72 Proc. H. Die Formel $C_{13}H_{10}O$ verlangt 85.71 Proc. C und 5.49 Proc. H. Eine Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult in Phenol als Lösungsmittel ergab die Zahl 185. Das Molekulargewicht des Benzophenons ist = 182. Die Ausbeute an Benzophenon beträgt etwa 70 Proc. der theoretischen.

Auf ähnliche Weise wird aus Benzol und Acetylchlorid das Acetophenon erhalten, wobei zweckmässig auf 7 Gewichtsthle. Benzol 8 Gewichtsthle. Acetylchlorid und 8 Gewichtsthle. Eisenchlorid angewendet werden. Das Eisenchlorid wird in kleinen Portionen eingetragen; um die stürmische Einwirkung zu mässigen, ist es

---

[1]) Dieser Band S. 365 u. 367.

[2]) Ebenda S. 364 u. 369.

gut, die Flüssigkeit mit etwas Schwefelkohlenstoff zu verdünnen. Es empfiehlt sich ferner, bei diesen Synthesen einen weithalsigen Kolben, der mit doppelt durchbohrtem Kork verschlossen ist, zu benutzen. Die eine Bohrung des Korkes ist für ein längeres Glasrohr oder einen aufgerichteten Kühler bestimmt, durch welchen die Salzsäure entweicht resp. die Dämpfe von Acetylchlorid, Benzol u. s. w. condensirt werden. Durch die zweite, weitere Bohrung geht ein kurzes Glasrohr hindurch, das mittelst eines Kautschukschlauches mit einer Glasbirne verbunden ist, in welcher das abgewogene Eisenchlorid sich befindet. Auf diese Weise kann das Eisenchlorid zu dem Kolbeninhalt, ohne den Kolben zu öffnen, in kleinen Portionen zugesetzt werden. Ist alles Eisenchlorid eingetragen, so wird der Kolben noch etwa $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Das Reactionsproduct wird sodann zur Entfernung des Eisenchlorürs mit Wasser gewaschen, im Scheidetrichter getrennt, das braun gefärbte Oel über P_2O_5 getrocknet und aus einem Fractionirkolben destillirt. Das erhaltene Acetophenon, nochmals rectificirt, erstarrte beim Abkühlen krystallinisch und gab bei der Verbrennung und Molekulargewichtsbestimmung mit der Formel C_8H_8O übereinstimmende Zahlen.

Wie mit Benzol reagiren die Säurechloride, bei Gegenwart von Eisenchlorid, auch mit Phenolen. Aus Acetylchlorid und Phenol wurde auf folgende Weise das p-Oxyacetophenon erhalten. 5 Gewichtsthle. Phenol werden in der gleichen Menge Schwefelkohlenstoff gelöst, hierauf 6 Gewichtsthle. Acetylchlorid hinzugesetzt und in kleinen Portionen 7 Gewichtsthle. Eisenchlorid hineingeschüttet. Das Reactionsproduct wurde zuerst mit Wasser gewaschen und hierauf im Dampfstrome destillirt. In das Destillat geht in geringen Mengen unverändertes Phenol über. Der nicht flüchtige Antheil wird noch heiss filtrirt. Aus der wässerigen Lösung krystallisirt beim Erkalten das p-Oxyacetophenon aus. Der restirende harzige Rückstand wird mit Aether ausgeschüttelt und, nach Abdestilliren des letzteren, der Rückstand aus heissem Wasser oder verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Durch wiederholte Krystallisation unter Zusatz von Thierkohle wurde die Substanz in schneeweissen Krystallnadeln erhalten, die bei 108° schmelzen und bei der Verbrennung 70.38 Proc. C und 6.10 Proc. H ergaben. Die Formel $C_8H_8O_2$ verlangt 70.59 Proc. C und 5.88 Proc. H. Aus 100 g Phenol erhielten wir durchschnittlich 30 g des Ketons als Rohproduct. Wie zu erwarten war, ist hier das Acetyl in die Parastellung eingetreten, denn dem Schmelzpunkte und den übrigen Eigenschaften nach ist unsere Verbindung identisch mit dem p-Oxyacetophenon von Klingel[1]); der einzige Unterschied besteht darin, dass die wässerige Lösung der Substanz von Klingel nach seiner Angabe durch Eisenchlorid braun gefärbt wird, während unser Product sich damit rothviolett färbt.

Durch fünfstündiges Kochen am Rückflusskühler mit Phenylhydrazin in alkoholischer Lösung haben wir das Phenylhydrazon des Ketons erhalten, das sich beim Erkalten in gelben Nadeln abscheidet. Aus heissem Alkohol umkrystallisirt und im Vacuo über Schwefelsäure getrocknet, schmolz das Phenylhydrazon bei 136° und ergab bei der Analyse 12.66 Proc. N; die Formel $OH.C_6H_4.C.(CH_3):N_2H.C_6H_5$

[1]) Ber. **18**, 2691.

verlangt 12.39 Proc. N. Die wässerige Lösung des Ketons, mit Bromwasser bis zur Gelbfärbung versetzt, giebt ein Dibromproduct, das sich sofort in weissen Nadeln abscheidet. Eine Brombestimmung ergab darin 54.80 Proc. Br. Die Formel $C_8H_6Br_2O_2$ verlangt 54.42 Proc. Br. Wird das Paraoxyacetophenon mit Salpetersäure von 1.3 spec. Gew. zum Kochen erhitzt, so entsteht ein selbst in heissem Wasser nur wenig lösliches Trinitroproduct. Nach wiederholter Krystallisation aus verdünntem Alkohol ergaben die im Vacuo getrockneten Krystalle 15.9 Proc. N. Die Formel $C_8H_5(NO_2)_3O_2$ verlangt 15.49 Proc. N.

Gleich wie Phenol verhalten sich auch die drei isomeren Kresole. Genauer untersucht haben wir nur die aus Acetylchlorid und o- resp. m-Kresol erhaltenen Ketone. Das aus o-Kresol erhaltene Methyloxyacetophenon ist identisch mit dem von Klingel[1]) durch Einwirkung von salpetriger Säure auf o-Amidoacetyltoluol und Zersetzung des Diazochlorids erhaltenen Keton. Die Seitenketten sind also hier in der Stellung: $CH_3:OH:COCH_3 = 1:2:5$. Das ähnlich wie das Oxyacetophenon erhaltene Product krystallisirte in weissen flachen Prismen, die bei 104° schmelzen und ergab bei der Verbrennung C 72.10 Proc. und H 6.94 Proc. Die Formel $C_9H_{10}O_2$ verlangt C 72.0 Proc. und H 6.67 Proc. Durch Eisenchlorid wurde die wässerige Lösung dieses Ketons braun gefärbt. Das aus m-Kresol erhaltene Acetoketon ist ebenfalls in kaltem Wasser schwer löslich, viel leichter in heissem, leicht in Alkohol und Aether. Der Schmelzpunkt der Krystalle liegt bei 126°. Ihre wässerige Lösung wird durch Eisenchlorid violett gefärbt. Ihre Verbrennung ergab 71.87 Proc. C und 7.01 Proc. H. Berechnet für $C_9H_{10}O_2$: C 72.0 Proc., H 6.67 Proc. Durch directe Versuche haben wir die Stellung der Seitenketten hier nicht bestimmt. Der Analogie nach ist jedoch auch hier anzunehmen, dass das Acetyl in die para-Stellung zum Hydroxyl eingetreten ist und dem Keton die Structur $C_6H_3 . \overset{1}{CH_3} . (\overset{3}{OH}) . \overset{6}{COCH_3}$ zukommt.

Bemerkenswerth ist es, dass unter den gleichen Bedingungen und selbst beim Erwärmen auf dem Wasserbade aus Phenol und Benzoylchlorid bei Gegenwart von Eisenchlorid kein Oxybenzophenon, sondern nur der Benzoësäurephenolester erhalten werden konnte. Die nach vollendeter Reaction mit Wasser und verdünnter Sodalösung gewaschenen und aus Alkohol umkrystallisirten Krystalle schmolzen bei 69°, ergaben bei der Verbrennung 78.75 Proc. C und 5.22 Proc. H — die Formel $C_{13}H_{10}O_2$ verlangt 78.80 Proc. C und 5.05 Proc. H —, durch Erwärmen mit verdünnten Aetzalkalien wurden sie in Phenol und Benzoësäure gespalten. Kurz, sie zeigten alle Eigenschaften des Benzoësäurephenolesters.

Aus p-Chlorphenol (6 Gewichtsthle.), Acetylchlorid (8 Gewichtsthle.) und Eisenchlorid (8 Gewichtsthle.) haben wir das p-Chloroxyacetophenon erhalten. Nach vollendeter Einwirkung wurde die braune, syrupöse Schmelze mit Wasser gewaschen und der Rückstand im Dampfstrome destillirt. In die Vorlage geht das Keton ölig über und erstarrt bald krystallinisch. Aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, wurde es in glänzenden Krystallschuppen erhalten, die bei 55° schmelzen und in heissem Wasser wenig löslich sind. Das Keton giebt mit Phenylhydrazin ein

[1]) Ber. **18**, 2699.

Phenylhydrazon und seine Lösung wird durch Eisenchlorid kirschroth gefärbt. Seine Elementaranalyse ergab:

Ber. f. $C_8H_7ClO_2$.		Gef.	
C	56.30	C	56.14 Proc.
H	4.11	H	4.30 „
Cl	20.82	Cl	20.70 „

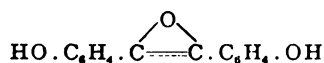
Das auf ähnliche Weise aus o-Chlorphenol und Acetylchlorid entstehende Keton wurde, nach Entfernung des Eisens durch Waschen mit kaltem Wasser, durch Auskochen des Rückstandes mit siedendem Wasser erhalten. Beim Erkalten des Filtrates scheidet sich das Keton Anfangs ölig ab. Beim Schütteln erstarrt es aber bald krystallinisch. Wiederholt aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, schmolzen die erhaltenen Krystallnadeln bei 96° und ergaben bei der Verbrennung mit der Formel $C_8H_7ClO_2$ übereinstimmende Zahlen. Ihre wässerige Lösung wird durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Mit Phenylhydrazin wurde ein in gelben Nadeln krystallisirendes Hydrazon erhalten, das sich aber an der Luft unter Braunfärbung zersetzt.

Aus o-Chlorphenol (5 Gewichtsthle.), Benzoylchlorid (6 Gewichtsthle.) und Eisenchlorid (6 Gewichtsthle.) haben wir auch das Chloroxybenzophenon dargestellt. Die Reactionsmasse wurde zuerst mit kaltem Wasser gewaschen und dann mit heissem Wasser ausgekocht. Beim Erkalten des Filtrates krystallisirt fast nur Benzoësäure aus, da das Keton selbst in heissem Wasser fast unlöslich ist. Der in heissem Wasser ungelöste Rückstand wurde hierauf in Alkohol gelöst und zu dem alkoholischen Filtrate, bis zur bleibenden Trübung, Wasser zugesetzt. Beim ruhigen Stehen krystallisirte jetzt das Keton in gelben Nadeln aus, die, wiederholt aus Alkohol umkrystallisirt, sodann über Schwefelsäure getrocknet, bei 176° schmolzen und bei den Analysen 67.15 Proc. C, 3.96 Proc. H und 15.21 Proc. Cl ergaben. Die Formel $C_6H_5.CO.C_6H_3Cl.OH$ verlangt 67.10 Proc. C, 3.87 Proc. H und 15.27 Proc. Cl. Eine Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult, bei Anwendung von Phenol als Lösungsmittel, ergab uns die Zahl 233. Das Molekulargewicht des Chloroxybenzophenons ist = 232.5. Dieses Keton ist in Alkalien, Alkohol und Aether leicht löslich. Durch Eisenchlorid werden die Lösungen nicht gefärbt. An der Luft nehmen die gelblichen Krystalle Rosafärbung an. Mit Phenylhydrazin haben wir ein braungelbes, öliges Product erhalten, das nicht zum Krystallisiren zu bringen war.

Anlässlich dieser Versuche haben wir auch die Einwirkung des sublimirten Eisenchlorids auf einige aromatische Aldehyde geprüft. Die Einwirkung ist meistens sehr heftig, und es wurden keine krystallinischen, sondern nur amorphe oder harzige Producte erhalten. Nur Salicylaldehyd lieferte uns mit Eisenchlorid einen rothen Farbstoff, den schon früher im Laboratorium des Einen von uns Herr A. Bourquin[1]) durch Einwirkung von Zinkchlorid auf Salicylaldehyd erhalten und analysirt hat. Zu 4 Gewichtsthln. Salicylaldehyd wird 1 Gewichtsthl. Eisenchlorid in kleinen Portionen hinzugegeben. Die Reactionsmasse wurde mit Wasser gefällt, ge-

[1]) Ber. **17**, 502. — Nencki's Opera omnia **1**, 777.

waschen, in Alkohol gelöst und aus dem alkoholischen Filtrate der rothe Farbstoff durch Wasserzusatz gefällt. Die weitere Reinigung des flockig abgeschiedenen Farbstoffs geschah nach dem von Bourquin angegebenen Verfahren. Die Elementaranalyse des Productes ergab 74.5 Proc. C und 4.60 Proc. H. Die von Borquin für den Farbstoff aufgestellte Formel $C_{14}H_{10}O_3$ verlangt 74.34 Proc. C und 4.42 Proc. H. Die Molekulargewichtsbestimmung ergab uns die Zahl 223, berechnet 226. Bourquin nimmt an, dass der Farbstoff durch Austritt von Wasser aus zwei Salicylaldehydmolekülen entsteht und nach der Formel:

$$HO.C_6H_4.\overset{\diagup O \diagdown}{C{=\!=}C}.C_6H_4.OH$$

constituirt ist.

Ueber das tertiäre p-Butyltoluol und seine Nitroproducte

von

M. Białobrzeski.

Ber. 30, 1773. — Eingegangen am 12. Juli. — Vorgetragen in der Sitzung von Herrn C. Liebermann.

Nach den Untersuchungen von Baur[1]) entsteht bei der Einwirkung von Aluminiumchlorid, sowohl aus dem Isobutylchlorid resp. -bromid, wie aus dem tertiären Butylbromid und Toluol, das gleiche tertiäre Butyltoluol = $C_6H_4(CH_3).C(CH_3)_3$, und zwar tritt das Butyl in die meta-Stellung ein. Durch Oxydation mit verdünnter Salpetersäure erhielt Baur aus diesem Kohlenwasserstoffe die m-Butylbenzoësäure und Isophtalsäure. Das Trinitroproduct des m-Butyltoluols ist bekanntlich der künstliche Moschus. Es war nun von Interesse, zu ermitteln, ob bei Ersatz des Aluminiumchlorids durch Eisenchlorid die gleichen Producte entstehen werden. Ich habe zu dem Zwecke in einem trockenen geräumigen Kolben gleiche Gewichtstheile (äquivalente Mengen) von Toluol und tertiärem Butylchlorid mit einer Messerspitze sublimirten Eisenchlorids versetzt, worauf gleich eine heftige Salzsäureentwickelung erfolgte und ohne weiteren Zusatz von Eisenchlorid zu Ende ging. Es ist deshalb zweckmässig, nicht mehr als etwa je 100 g der beiden Componenten in Arbeit zu nehmen und, sobald nach Zusatz von Eisenchlorid die Salzsäureentwickelung beginnt, den Kolben mit einem Kühler zu verbinden. Ist die Gasentwickelung zu Ende, so wird Wasser zugesetzt, das aufschwimmende Oel im Scheidetrichter getrennt und im Dampfstrome destillirt. Das mit den Wasserdämpfen übergegangene Oel wird wieder im Scheidetrichter getrennt, über Phosphorsäureanhydrid getrocknet und rectificirt. Nach dem Abdestilliren des geringen Vorlaufs steigt der Quecksilberfaden rasch in die Höhe, und zwischen 180 bis 200° geht fast das ganze Destillat über. Das Destillat wurde noch einmal rectificirt und in drei

---

[1]) Ber. 24, 2832 und 27, 1606.

Fractionen: von 180 bis 191°, von 191 bis 193° und von 193 bis 200°, aufgefangen. Der grösste Theil des Destillates ging zwischen 189 bis 190° bei 758 mm Bst. über. Diese Fraction — eine farblose Flüssigkeit von angenehmem Geruch und dem spec. Gewicht 0.8784 bei 0° und 0.8611 bei 23° — wurde analysirt und ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen: 88.92 Proc. C und 10.56 Proc. H. Die Formel $C_6H_4<{CH_3 \atop C_4H_9}$ verlangt 89.19 Proc. C und 10.81 Proc. H. Aus Isobutylchlorid und Toluol entsteht bei Gegenwart von Eisenchlorid dasselbe tertiäre Butyltoluol. Es findet also eine Umlagerung des Isobutyls in das tertiäre Butyl statt. Die Einwirkung ist hier viel träger und es musste viel mehr, etwa ebensoviel Eisenchlorid wie das Gewicht des angewandten Toluols, zugesetzt werden. Auch die Ausbeute ist viel geringer. Aus 30 g tertiären Butylchlorids erhielt ich 20 g reinen Butyltoluols, aus 30 g Isobutylchlorid dagegen nur 13 g. Die Elementaranalyse der zwischen 188 bis 191° siedenden Fraction ergab 88.94 Proc. C und 10.92 Proc. H. Das specifische Gewicht des aus Isobutylchlorid erhaltenen Butyltoluols habe ich bei 0° zu 0.8793 und bei 23° zu 0.8614 gefunden.

Ich versuchte nun, das erhaltene Butyltoluol in den künstlichen Moschus zu verwandeln. Obgleich ich aber genau nach der Vorschrift von Baur verfuhr, erhielt ich aus allen drei zwischen 180 bis 200° siedenden Fractionen statt des Trinitro- nur ein Dinitrobutyltoluol. Die zwischen 180 bis 191° siedende Fraction mit dem fünffachen Gewichte des Gemisches von Salpetersäure und Schwefelsäure (ein Theil Salpetersäure, specifisches Gewicht 1.52, auf zwei Theile rauchende Schwefelsäure) neun Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt, gab mir ein Nitroproduct, das nach dem Waschen mit Wasser Anfangs ölig abgeschieden wurde, aber beim Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol krystallinisch erstarrte und nach nochmaligem Umkrystallisiren aus heissem, verdünntem Alkohol bei 94 bis 95° schmolz. Dieses Product hatte einen ganz schwachen Moschusgeruch und ergab nach dem Trocknen über Schwefelsäure 11.88 und 11.92 Proc. N. Die Formel $C_6H_2:(NO_2)_2.(CH_3).C_4H_9$ verlangt 11.76 Proc. N. Auf ganz gleiche Weise behandelt gab die zwischen 191 bis 193° siedende Fraction dasselbe bei 95° schmelzende Dinitroproduct. Eine vollständige Elementaranalyse ergab mir folgende Zahlen: C 55.47 Proc., H 5.74 Proc. und 12.1 Proc. N. Die Formel des Dinitrobutyltoluols verlangt C 55.46 Proc., H 5.88 Proc. und N 11.76 Proc. Das durch Schmelzpunktserniedrigung des Phenols in dem Abel'schen Apparate bestimmte Molekulargewicht ergab mir die Zahl 248, berechnet 238. Auch die zwischen 183 bis 200° siedende Fraction, auf gleiche Weise nitrirt, ergab dasselbe bei 94 bis 95° schmelzende Dinitroproduct. Gefunden C 55.55 Proc., H 5.89 Proc. und N 11.86 Proc. Als ich dieses Dinitroproduct mit der Mischung von Salpetersäure und rauchender Schwefelsäure fünf Minuten lang zum Sieden erhitzte, blieb die Substanz unverändert. Durch Ausfällen mit Wasser, Auswaschen und Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol habe ich sie wieder rein, vom Schmelzpunkt 94 bis 95°, erhalten. Das Dinitroproduct entsteht übrigens auch, wenn die Nitrirung in der Kälte vorgenommen wird. Zu der in einer Kältemischung befindlichen, stark abgekühlten Säuremischung setzte ich allmählich den Kohlenwasserstoff hinzu,

schüttelte von Zeit zu Zeit um, und nach zwei Stunden setzte ich zu dem Gemenge viel Wasser hinzu. Das abgeschiedene Oel errstarrte bald krystallinisch. Aus Alkohol umkrystallisirt schmolz es nach dem Trocknen über Schwefelsäure bei 94 bis 95° und enthielt 12.17 Proc. Stickstoff. Aus den alkoholischen Mutterlaugen habe ich, in geringer Menge, bei etwa 35° schmelzende Krystalle erhalten, die nur 9.63 Proc. Stickstoff enthielten und danach wahrscheinlich aus einem Gemisch von Mono- und Dinitrobutyltoluol bestanden.

Da ich aus dem mittelst Eisenchlorids erhaltenen Butyltoluol kein Trinitroproduct darstellen konnte, so wurde es mir zweifelhaft, dass mein Kohlenwasserstoff identisch mit dem Butyltoluol von Baur sei.

Nach den Untersuchungen des genannten Autors gehört sein Kohlenwasserstoff der m-Reihe an. Um die Frage aufzuklären, habe ich daher meinen Kohlenwasserstoff oxydirt und zunächst daraus mittelst Chromsäure die p-Butylbenzoësäure vom Schmelzpunkt 164° erhalten und die letztere durch Erhitzen mit verdünnter Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohr in Terephtalsäure übergeführt. Daraus geht also hervor, dass aus Toluol und tertiärem Butylchlorid mittelst Aluminiumchlorids das m-Butyltoluol, bei der Einwirkung von Eisenchlorid dagegen das p-Butyltoluol entsteht. Weil die p-Stellung in meinem Kohlenwasserstoffe besetzt ist, lassen sich nur zwei Nitrogruppen in das Butyltoluol einführen, während das m-Butyltoluol die Einführung von drei Nitrogruppen zulässt.

Die zwischen 191 bis 193° siedende Fraction des Kohlenwasserstoffes wurde mit Chromsäure oxydirt (auf 1 Gewichtstheil des p-Butyltoluols 10 Gewichtstheile Chromsäure in Essigsäure gelöst). Anfangs wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade erwärmt, hernach erhitzt sich die Flüssigkeit mit jedem Zusatz der Chromsäurelösung und die Oxydation verlief ziemlich heftig. Nach dem Erkalten wurde die dicke Flüssigkeit stark mit Wasser verdünnt, worauf sich in geringer Menge gelbe Krystalle, leicht in Alkohol und Aether löslich, von angenehmem, ananasartigem Geruch, abschieden. Leider reichte die erhaltene Quantität für die Verbrennung nicht aus. Das Filtrat davon wurde mit Ammoniak übersättigt, von Ungelöstem abfiltrirt, und die klare Lösung mit Salzsäure gefällt. Es entstand ein reichlicher weisser Niederschlag, der mit Wasser ausgewaschen und wiederholt aus Alkohol, aus welchem er sich beim Erkalten in farblosen mikroskopischen Nadeln abscheidet, umkrystallisirt. Ueber Schwefelsäure getrocknet schmolz die erhaltene Säure bei 164° und ergab bei der Verbrennung C 73.86 Proc. und H 7.76 Proc. Die Formel $C_6H_4 . C(CH_3)_3 . CO_2H$ verlangt C 74.16 Proc. und H 7.86 Proc. Das Molekulargewicht, nach der Raoult'schen Methode in Phenol bestimmt, ergab die Zahl 170, berechnet 178. Das Silbersalz, durch Fällung des Ammoniaksalzes mit Silbernitrat erhalten, bildet einen weissen, amorphen Niederschlag, der nach dem Trocknen 38.03 Proc. Ag enthielt. Die Formel $C_6H_4 . C(CH_3)_3 . CO_2Ag$ verlangt 37.89 Proc. Ag. Die von mir erhaltene Säure ist identisch mit der p-Butylbenzoësäure, die W. Kelbe und G. Pfeiffer[1]) aus Toluol und Isobutylbromid erhalten haben und ist demnach nicht die Iso-, sondern die tertiäre p-Butylbenzoësäure $= C_6H_4 . C \vdots (CH_3)_3 . CO_2H$.

[1]) Ber. 19, 1725.

Die Ausbeute an der Säure ist eine sehr gute, und ausser der minimalen Menge der oben erwähnten krystallinischen Substanz von angenehmem Geruch habe ich keine anderen Nebenproducte erhalten. Die p-Butylbenzoësäure habe ich dann durch Erhitzen mit verdünnter Salpetersäure — (auf 1 Thl. Säure von 1.3 spec. Gew. 2 Thle. Wasser) — auf 180° im zugeschmolzenen Rohr während drei Stunden zu Terephtalsäure oxydirt. Die im Rohr befindlichen Krystalle wurden abfiltrirt, mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen, und die auf dem Filter zurückgebliebene Säure in ihr Ammoniaksalz verwandelt, aus welchem durch Salzsäurezusatz die freie Säure abgeschieden wurde. Eine Kohlenwasserstoffbestimmung in dem über Schwefelsäure getrockneten Präparate ergab mir 58 Proc. C und 4 Proc. H. Die Formel $C_6H_4(CO_2H)_2$ verlangt 57.83 Proc. C, 3.61 Proc. H. Im Capillarröhrchen erhitzt, schmelzen die Krystalle nicht. Ihre Identität mit der Terephtalsäure habe ich ausserdem durch die Darstellung des schwer löslichen Baryumsalzes und des Methylesters nachgewiesen. Zur Gewinnung dieses Esters wurde zunächst aus dem Ammoniaksalze das Silbersalz bereitet, welches mit überschüssigem Jodmethyl vier Stunden lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade erwärmt wurde. Der erhaltene Ester, aus Alkohol umkrystallisirt und getrocknet, schmolz im Capillarrohr bei 140° und ergab bei der Verbrennung 62.20 Proc. C und 5.21 Proc. H. Die Formel $C_6H_4(CO_2CH_3)_2$ verlangt 61.85 Proc. C und 5.15 Proc. H.

Ueber die Acetsalicylsäure

von

M. Białobrzeski und **M. Nencki.**

Ber. 30, 1776. — Eingegangen am 12. Juli.

Zur Darstellung dieser Säure werden 80 g Salicylsäure mit 100 g Acetylchlorid übergossen, und in die Flüssigkeit in kleinen Portionen 100 g Eisenchlorid eingetragen. Bei Zusatz von Eisenchlorid findet sofort eine lebhafte Reaction statt, und es entsteht zunächst der Acetylester der Salicylsäure. Bei weiterem Zusatz von Eisenchlorid wird die Masse wieder flüssig und färbt sich dunkel. Tritt nach weiterem Zusatz von Eisenchlorid keine lebhaftere Salzsäureentwickelung ein, so wird der Kolbeninhalt über freier Flamme unter Umschwenken erwärmt, wobei die Temperatur der Schmelze bis auf 110° steigt. Höher wie auf 115° zu erwärmen, ist nicht rathsam. Nach etwa einer Viertelstunde, nachdem alles Eisenchlorid eingetragen, lässt man erkalten, übergiesst die Schmelze mit kaltem Wasser, giesst die wässerige, tiefroth gefärbte Lösung ab und wäscht noch ein- bis zweimal mit kaltem Wasser nach. Die zurückbleibende gelbe Masse wird jetzt mit siedendem Wasser ausgezogen, worin sie sich allmählich ganz auflöst. Die heiss filtrirte, tiefrothe Lösung wird mit Salzsäure bis zur Entfärbung versetzt, worauf sich beim Erkalten die Acetsalicylsäure in gelben Nadeln abscheidet. Der nach 24stündigem

Stehen entstandene krystallinische Niederschlag wird abfiltrirt, mit kaltem Wasser nachgewaschen und aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Die gelblich gefärbte Säure kann durch Kochen mit etwas Kaliumpermanganat entfärbt werden. Die Elementaranalyse der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ergab uns 59.92 Proc. C und 4.40 Proc. H. Die Formel $C_6H_3(OH)(COCH_3)(CO_2H)$ verlangt 60.0 Proc. C und 4.44 Proc. H. Die Molekulargewichtsbestimmung nach Raoult ergab die Zahl 186, berechnet 180. Im Capillarröhrchen schmilzt die Säure bei 210°. In Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform ist die Säure leicht löslich, sehr wenig in Wasser (1 Theil der Säure in 945 Theilen Wasser). Die Lösung der Säure wird durch Eisenchlorid roth gefärbt. Aus 100 g Salicylsäure werden 30 g Acetsalicylsäure erhalten.

Um das Oxim der Säure zu erhalten, haben wir 3 g der Substanz mit 2 g salzsaurem Hydroxylamin und 3 g Kalihydrat in alkoholischer Lösung am Rückflusskühler drei Stunden lang erwärmt. Hierauf wurde der Alkohol verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Salzsäure angesäuert. Das Oxim fällt dabei aus in Form weisser Krystallnadeln, die abfiltrirt, mit kaltem Wasser ausgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet, bei 175° schmelzen. Durch Eisenchlorid wird die Lösung des Oxims violett gefärbt. Bei der Verbrennung des Oxims erhielten wir 55.0 Proc. C, 4.70 Proc. H und 7.16 Proc. N. Die Formel $C_6H_3(OH)(C(:NOH).CH_3)(CO_2H)$ verlangt C 55.38 Proc., H 4.61 Proc. und N 7.17 Proc.

Zur Darstellung des Hydrazons haben wir einen Gewichtstheil der Säure mit drei Gewichtstheilen Phenylhydrazin in alkoholischer Lösung vier Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Hierauf wurde die Lösung bis auf ein Drittel verdunstet und abgekühlt, wobei die Flüssigkeit krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden auf dem Filter mit 10 proc. Salzsäure, bis das Filtrat farblos ablief, und hierauf mit Wasser bis zur Entfernung der Salzsäure ausgewaschen. Das so erhaltene Hydrazon bildet gelbe Nadeln, die bei 212° unter Zersetzung schmelzen; ihre Lösung wird durch Eisenchlorid violett gefärbt. Bei dem Versuch, die Krystalle umzukrystallisiren, fand eine theilweise Zersetzung statt. Die Elementaranalyse des Hydrazons ergab: 66.44 Proc. C, 4.98 Proc. H und 10.54 Proc. N. Die Formel $C_6H_3(OH)(C[:N.NH.C_6H_5].CH_3)(CO_2H)$ verlangt 66.66 Proc. C, 5.18 Proc. H und 10.37 Proc. N.

Von den Salzen der Acetsalicylsäure haben wir das Natrium-, Kalium-, Ammonium- und Baryumsalz genauer untersucht. Sie sind in Wasser leicht löslich und die Lösungen werden, ähnlich wie die der freien Säure, durch Eisenchlorid kirschroth gefärbt. Das Natriumsalz, durch genaue Neutralisation der Säure mit Natronlauge und Verdunsten der wässerigen Lösung erhalten, krystallisirt in weissen Tafeln, die drei Moleküle Krystallwasser enthalten und in Alkohol nur wenig löslich sind. Bei 110° getrocknet verlor das lufttrockene Salz 21.09 Proc. an Gewicht. Die Formel $C_9H_7O_4.Na + 3H_2O$ verlangt 21.49 Proc. Gefunden in dem getrockneten Salze 11.70 Proc. Na, berechnet 11.38 Proc. Na. Das auf gleiche Weise dargestellte Kaliumsalz krystallisirte in gelblichen, mikroskopischen Nadeln, die in Alkohol ebenfalls schwer löslich sind. Das lufttrockene Salz verlor bei 110° 4.1 Proc. an Gewicht und enthielt dann 18.0 Proc. K. Berechnet für $C_9H_7O_4.K + 1/2 H_2O$ ein Gewichtsverlust von 3.96 Proc. und für das trockene Salz 17.88 Proc. K.

Das Ammoniumsalz, durch Auflösen der Säure in wässerigem Ammoniak und Verdunsten der Lösung erhalten, ist nach der Formel $C_9H_7O_4 . NH_4 + H_2O$ zusammengesetzt und bildet lange Nadeln, die in Alkohol viel leichter löslich sind als die vorigen Salze. Das Krystallwasser entweicht bei 110° vollständig. Wird die Acetsalicylsäure in Wasser suspendirt und mit kohlensaurem Baryum gekocht, so färbt sich die Flüssigkeit stark roth. Aus der heiss filtrirten und auf ein kleineres Volumen eingedampften Lösung schied sich ein mikroskopisch krystallinischer, roth gefärbter Niederschlag ab, der aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt wurde. Die erhaltenen, röthlich gefärbten Krystalle sind in kaltem Wasser nur wenig löslich, viel leichter in heissem; in Alkohol unlöslich. Das Salz ist nach der Formel $(C_9H_7O_4)_2 . Ba + 2 H_2O$ zusammengesetzt. Das Krystallwasser entweicht erst vollständig bei 150°. Gefunden 7.0 Proc.; berechnet für die obige Formel 6.78 Proc. Gewichtsverlust. Gefunden im trockenen Salze 27.9 Proc. Ba; berechnet 27.67 Proc. Ba.

In welcher Stellung in der Acetsalicylsäure das Acetyl relativ zum Hydroxyl sich befindet, haben wir bis jetzt durch directe Versuche nicht ermittelt. Mit Kaliumpermanganat wurde die Säure entweder ganz oxydirt oder blieb unverändert. Bei der Oxydation, selbst mit verdünnter Salpetersäure, entsteht ein schwer zu entfernendes Nitroproduct. Auch das Schmelzen mit Kali führte uns nicht zum Ziele. Aller Wahrscheinlichkeit nach befindet sich auch hier das Acetyl zum Hydroxyl in der p-Stellung.

Durch die Einführung des Acetyls in den Benzolkern wurde die antiseptische Wirkung der Salicylsäure wesentlich abgeschwächt. In wässerigen, bei der Bruttemperatur gesättigten Lösungen der Säure wird Zucker durch die Hefe vergährt. Ebenso hindert eine gesättigte Bouillonlösung der Säure das Wachsthum von Typhusbacillen und Erysipelcoccen nicht. Für den Thierkörper ist die Säure, selbst in grösseren Dosen, ungiftig und wird, innerlich einverleibt, von den Pflanzenfressern unverändert ausgeschieden. Ein Kaninchen, 1.6 kg schwer, erhielt mittelst der Schlundsonde 2 g des Natriumsalzes in den Magen injicirt und am nächsten Tage die gleiche Dosis ohne jede Intoxicationserscheinung. Der mittelst Katheter entnommene Harn wurde auf dem Wasserbade verdunstet, nach dem Erkalten mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Der ätherische Auszug hinterliess nach dem Abdestilliren des Aethers gelblich gefärbte Krystalle, deren wässerige Lösung mit Eisenchlorid sich kirschroth färbte. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, unter Zusatz von Thierkohle, war die Substanz rein. Die Krystalle nach dem Trocknen waren stickstofffrei, schmolzen bei 210° und gaben bei der Verbrennung mit der Formel der Acetsalicylsäure übereinstimmende Zahlen. Gefunden 60.3 Proc. C und 4.57 Proc. H.

Ueber das Nichtvorkommen des Argons im Blutfarbstoffe

von

J. Zaleski.

Ber. **30**, 965. — Arch. des sciences biolog. **6**, 51. — Gazeta Lekarska (1897), Nr. 32. — Nach dem Referate von Dr. A. Walther abgedruckt. Maly's Jahresber. **27**, 148.

Die Stickstoffbestimmung im Hämin ergiebt verschiedene Werthe, je nachdem man die Methoden von Dumas oder Kjeldahl in Anwendung zieht. So erhielt Verf. in demselben Häminpräparat 8.40 bis 8.44 Proc. N nach Dumas und 7.82 Proc. N nach Kjeldahl. Es war denkbar, wenn auch nicht wahrscheinlich, dass das Stickstoffplus bei der Dumas-Bestimmung durch eine Beimengung von Argon hervorgerufen war; bei der Ammoniakbestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl konnte der Argonzuschuss natürlich nicht zu Tage treten. Um sich über die Frage Gewissheit zu verschaffen, verbrannte Verf. grössere Mengen von Hämoglobin und Hämatin mit Kupferoxyd und untersuchte die Verbrennungsgase auf die Gegenwart von Argon. Verf. arbeitete mit dem Apparat von Schlösing, den er zur schnelleren Absorption des Stickstoffs durch Einfügung einer Handquecksilberpumpe modificirt hatte (im Originale nachzulesen). Zum ersten Versuche dienten die Verbrennungsgase von 7.0 Hämin und 10.0 Hämoglobin, im Ganzen 1.5 Liter Gas. Nach der Absorption des N durch metallisches Lithium wurde das Gas in einer Geissler'schen Röhre mit Magnesiumelektroden untersucht. Es zeigte sich zunächst gleichzeitig das Spectrum des N und H; nachdem die elektrischen Entladungen eines kräftigen Inductoriums mehrere Stunden eingewirkt hatten, verschwand das N-Spectrum und das Spectrum des H blieb allein übrig. — Zum zweiten Versuch wurden 2 Liter Gas aus 20.0 Hämin und 4.0 Hämatin verwandt, der Stickstoff durch metallisches Magnesium absorbirt und das Gas zur Befreiung von Wasserstoff über glühendes Kupferoxyd geleitet. Auch in diesem Falle konnte kein Argonspectrum erhalten werden. 700 bis 800 ccm atmosphärischen Stickstoffs, auf die gleiche Weise behandelt, liessen stets ein deutliches Argonspectrum erkennen. Mithin ist anzunehmen, dass der Stickstoff des Blutfarbstoffes keine Argonbeimengung enthalte.

Ueber die Rinderpest

von

M. Nencki, N. Sieber und **W. Wyżnikiewicz.**

Berliner klin. Wochenschrift Nr. 24. — **Архивъ Ветеринарныхъ Наукъ**, Juliheft 1897. — **Больничная Газета Боткина** No. 23 u. 24. — Gazeta Lekarska No. 46. — Vorgetragen von Prof. Nencki in der Versammlung der russischen Aerzte in Petersburg, 8. Mai 1897.

Die Untersuchung, deren Ergebnisse wir im Folgenden mittheilen, wurden im Auftrage der russischen Regierung vor jetzt zwei Jahren von uns unternommen und hatten zunächst die Aufgabe, einem Wunsche der Schafzüchter des Kubangebietes nachkommend, zu ermitteln, in wie fern Schafe der Merinorasse für die Rinderpest empfänglich sind. Gleichzeitig sollte damit eine Untersuchung über die Natur des Rinderpestcontagiums verbunden sein. Im August des Jahres 1895 begaben wir uns in das Land der Kuban'schen Kosaken, wo gerade die Rinderpest herrschte und nachdem wir uns mit den Symptomen, dem Verlauf und den pathologisch-anatomischen Veränderungen bei dieser Krankheit bekannt gemacht hatten, wurden unsere Untersuchungen zunächst im Kubangebiete auf einem Berge in der Nähe der Kosakenstaniza Kardanik am nördlichen Abhange des Elborus und seit November 1895 in Petersburg, im Institute für experimentelle Medicin fortgesetzt. Die ersten Resultate unserer Untersuchungen haben wir vor einem Jahre in dem russischen Archiv der Veterinärwissenschaften (Juliheft 1896) veröffentlicht [1]. Der Inhalt dieser Publication lässt sich in den drei folgenden Punkten resumiren.

1. Der Erreger der Rinderpest gehört nicht zu den Bacterien. Alle von den bisherigen Autoren als Ursache der Rinderpest beschriebenen Spaltpilzarten haben damit nichts zu thun. Wohl gelang es uns, zwei Bacterienarten zu isoliren, die pathogen sind und bei den Wiederkäuern eine acute, manchmal tödtliche Gastroenteritis, aber keine Rinderpest hervorrufen. In diesem Punkte stimmen wir also überein mit den im vorigen Jahre publicirten Untersuchungen von Semmer [2]) und Tartakowsky [3]).

2. Der specifische Mikrobe der Rinderpest lässt sich auf mucinhaltigen Nährböden, auf Agar, auf Peptonbouillon (5 bis 10 Proc.) mit Zusatz von 2 Proc. Kochsalz cultiviren, wo er als blassglänzende runde, manchmal birnenförmig spitz ausgezogene, 1.5 bis 3 μ grosse Körperchen erscheint. Durch die verschiedenen Farbstofflösungen werden diese Körperchen gar nicht oder nur schlecht tingirt und bilden auf festen Nährböden keine Colonien. Auf flüssigen Nährböden ist ihre Fort-

[1]) **Къ этіологіи чумы рогатаго скота.** Nencki und Sieber.

[2]) Deutsche Zeitschr. f. Thiermedicin **22**, 32.

[3]) Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg, **4**, 295.

züchtung schwer, da sie von Bacterien leicht überwuchert werden. Die Culturen dieses Mikroben in erster bis vierter Generation rufen bei Schafen und Kälbern typische Rinderpest hervor und gesunde Kälber, mit dem Blute der gefallenen Thiere inficirt, gehen ebenfalls an Rinderpest zu Grunde.

3. Das Serum von Thieren, welche die Pest überstanden haben, hat immunisirende Eigenschaften. Wir fanden, dass Kälber, denen wiederholt 20 bis 30 ccm solchen, von einem Schaf herrührenden, Serums subcutan injicirt wurden, hernach mit virulentem Material inficirt, zwar an Pest erkrankten, aber genasen und gegen neue Infection immun blieben.

Unsere russische Publication wurde wenig bekannt. Wir zögerten auch absichtlich mit der ausführlichen Publication, da es unser Wunsch war, genaue und präcise Daten über die Natur des Pestmikroben, seine Lebensbedingungen, sowie die Methoden zur Immunisirung resp. Heilung der Rinderpest zu ermitteln. Mit grossem Eifer haben wir im Laufe des vergangenen Jahres daran gearbeitet. Wiederholt haben wir an der Specificität des von uns gefundenen Mikroben gezweifelt und alle anderen im Blute und den Organen pestkranker Thiere aufgefundenen Mikroorganismen auf ihre eventuelle Beziehung zu dieser Erkrankung geprüft. Stets hat uns aber das Experiment darauf hingewiesen, dass der von uns schon in Kardanik gesehene Mikrobe der wirkliche Erreger der Rinderpest ist. Da wir inzwischen auch bezüglich der Immunisation verschiedene Erfahrungen gesammelt haben, so halten wir es für angezeigt, namentlich mit Rücksicht auf die Berichte von R. Koch, unsere Untersuchungen auch in deutscher Sprache zu veröffentlichen. Der Raum dieser Wochenschrift gestattet nicht eine ausführliche Mittheilung der zahlreichen Protokolle, Zeichnungen und mikrophotographischen Aufnahmen. Sie sollen demnächst in einer separaten Abhandlung veröffentlicht werden. Wir beschränken uns hier auf die Mittheilung der wesentlichen Ergebnisse.

Der Misserfolg der bisherigen zahlreichen Untersuchungen über die Rinderpest hat einen dreifachen Grund. Der erste war die vorgefasste Meinung, dass der Mikrobe eine Bacterienart ist und seine Isolirung mittelst der üblichen Methoden gelingen müsse. Der zweite Grund liegt in der Natur des Mikroben selbst. Trotz der ausserordentlichen Ansteckungsfähigkeit, der schweren Erkrankung und der typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen ist die Rinderpest eine specifische Erkrankung der Wiederkäuer, und selbst unter den Wiederkäuern sind einzelne Arten und Rassen verschieden empfänglich. Es war daher a priori zu erwarten, dass der, die Rinderpest hervorrufende Mikrobe an sehr bestimmte und enge Bedingungen bezüglich seines Lebens und seiner Virulenz gebunden ist. Der dritte Grund der Misserfolge unserer Vorgänger ergiebt sich aus dem Vorangehenden und liegt darin, dass die von ihnen benutzten üblichen Nährsubstrate für den Rinderpestmikroben nicht geeignet waren. Es ist nicht übertrieben, wenn wir sagen, dass wir etwa hundert verschiedener Nährsubstrate angewendet haben, in der Hoffnung, dass der specifische Mikrobe darauf auswachsen und zu isoliren sein werde. Wir haben in Folge davon aus den Säften und Geweben gesunder und pestkranker Kälber nicht nur neue Mikroben rein gezüchtet und isolirt, darunter eine im Blute pestkranker Kälber ziemlich häufig vorkommende pathogene Streptotrixart, sondern auch für die

schwer zu isolirenden Organismen, wie die Flagellaten und Amöben, sehr günstige Nährsubstrate gefunden. Es würde uns zu weit führen, die verschiedenen Nährböden hier einzeln anzuführen. Wir wollen uns nur auf diejenigen beschränken, auf denen es uns gelungen ist, den für die Rinderpest specifischen Mikroben zu züchten.

Da bei der Rinderpest in erster Linie die Schleimhaut des Verdauungstractus afficirt ist, so hielten wir es für wahrscheinlich, dass ein an thierischem Schleim reicher Nährboden für die Cultur des Pestmikroben geeignet sein dürfte. Nach verschiedenen Versuchen hat sich folgendes Verfahren zur Herstellung mucinhaltiger Nährsubstrate als brauchbar erwiesen: 1 bis 2 kg frisch aus dem Schlachthause bezogener Submaxillardrüsen vom Rind werden herauspräparirt, in einer Fleischmaschine fein zerhackt, mit dem fünffachen Gewicht destillirten Wassers übergossen und unter häufigem Umrühren 20 bis 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Man filtrirt durch Fliesspapier und das dickliche Filtrat wird sofort durch Chamberlandkerzen in sterile Gefässe filtrirt. Die Kerzen sind vorher auf ihre Durchlässigkeit zu prüfen. Sie dürfen keine Bacterien durchlassen und andererseits nicht zu dick in der Wandung sein. Von diesem Mucin bereiten wir drei Sorten, nämlich: 1. ohne allen Zusatz, 2. mit vorherigem Zusatz von 3 Proc. NaCl, und 3. mit einem Zusatz von 0.2 bis 0.5 pro Mille an Kali- oder Natronhydrat. Durch Fliesspapier lässt sich der wässerige Auszug der Speicheldrüsen gut filtriren. Aus dem neutral reagirenden Filtrate kann durch Zusatz von so viel verdünnter Salzsäure, dass die Lösung 1.5 pro mille HCl enthält, das Mucin als schleimige Masse abgeschieden werden. Das gefällte und mit Wasser ausgewaschene Mucin kann von Neuem in Alkali gelöst und durch Zusatz von Gelatine oder Agar zur Herstellung eines festen Nährbodens — „Mucingelatine resp. Mucinagar“ — verwendet werden. Die durch Fliesspapier filtrirte Mucinlösung trübt sich beim Kochen, wobei sich etwas Eiweiss abscheidet. Setzt man jedoch zu dem Filtrate soviel Kali- oder Natronhydrat hinzu, dass die Lösung 0.3 bis 0.5 pro Mille Alkali enthält, so bleibt die Lösung auch beim Kochen klar und kann auf die Weise sterilisirt werden. Das Mucin wird in sterile Röhrchen vergossen, andererseits kann es zu festen Nährböden zugesetzt werden. Genau auf gleiche Weise haben wir aus gehacktem Kalbfleisch, das mit dem doppelten Gewicht Wasser 24 Stunden in der Kälte gestanden, durch Filtration, Anfangs durch Fliesspapier, hierauf durch Chamberlandkerzen, als Ersatz der Fleischbouillon sterilen Fleischsaft bereitet. Als einen anderen mucinhaltigen Nährboden benutzten wir die Galle. Frische Rindergalle wurde direct aus der Gallenblase in sterile Röhrchen vertheilt und im Autoclaven sterilisirt. In einigen Fällen wurden der Galle 2 Proc. NaCl zugesetzt. Auch die Galle kann zu festen Nährböden zugesetzt werden.

Peptonkochsalzlösung wurde bereitet durch Auflösen von 100 g Pepton „Witte“ in 900 g Wasser. Der Lösung wurde 20 g NaCl zugesetzt, filtrirt, in Probirröhrchen vergossen und im Autoclaven sterilisirt.

Agar mit unorganischen Salzen. 10 bis 15 g Agar werden zunächst durch zwei- bis dreimaliges Aufgiessen von destillirtem Wasser ausgelaugt, hierauf in einem Liter heissem Wasser gelöst. Der Lösung wurden zugesetzt: 0.5 g phosphorsaures Kalium (PO_4HK_2), 1 g calcinirte Soda (CO_3Na_2), 2.5 g neutrales schwefel-

saures Ammon [$SO_4(NH_4)_2$] und 5 bis 10 g Kochsalz. Die Lösung wird filtrirt und im Autoclaven sterilisirt. Selbstverständlich verflüchtigt sich bei der Sterilisation ein Theil des Ammoniaks. Nach unseren Beobachtungen macht gerade dieser Umstand den Nährboden für die Amoebencultur besonders geeignet.

Werden diese Nährlösungen mit einer bis drei Platinösen pesthaltigen Materials geimpft und bei Bruttemperatur stehen gelassen, so sieht man schon am zweiten Tage ausser Bacterien blassglänzende ein bis drei μ grosse, meistens runde Gebilde. Einzelne sind oval, birnenförmig oder spitz ausgezogen. An den grösseren Individuen sieht man Ausbuchtungen und an einzelnen ein in der Mitte liegendes Körnchen. Die grösseren mehr matten zeigen amöboide Formveränderungen; auch haben einige einen, seltener zwei cilienartige Fortsätze. In Culturen aus Galle, den Organen, Erosionen, Magen- oder Darminhalt, wo kleinste Fetttröpfchen beigemischt sind, sind diese Organismen schwer davon zu unterscheiden. Durch Zusatz von Osmiumsäure werden sie nicht wie die Fetttröpfchen geschwärzt, sondern gerathen in eine stärkere, zitternde Bewegung. Da bei den Ueberimpfungen aus den Organen das Mitauswachsen der Spaltpilze sehr störend ist, so benutzen wir für die Impfungen vorzugsweise Galle und Blut. Blut bietet den Vortheil, dass es in jedem Stadium der Erkrankung leicht aus den Ohrvenen steril erhalten werden kann. Untersucht man das mit physiologischer Kochsalzlösung passend verdünnte Blut nach Ausbruch des Fiebers oder, noch besser, gegen das letale Ende, nach Abfall der Temperatur, so sieht man nicht in jedem, wohl aber in jedem dritten bis fünften Präparate ausser den Blutkörperchen die gleichen runden Gebilde, welche wir in Culturen erhalten und als infectiös erkannt haben. Sie erscheinen nur hier blasser, unbeweglich, manchmal mit einem bis zwei Fortsätzen. Trocknet man das Präparat bei gewöhnlicher oder höherer Temperatur ein und färbt nach den üblichen Methoden der Bacterienfärbung, so ist das Resultat in so fern völlig negativ, als nichts deutlich Definirbares zu sehen ist. Fixirt man das Blutpräparat vorher mit Osmiumsäure oder Osmium- plus Essigsäure, Alkohol oder Chloroformäther und färbt mit Methylengrün, Hämatoxylin, Fuchsin, Methylenblau oder am besten mit der Rhumbler'schen Lösung (vergl. Rhumbler im Zoologischen Anzeiger, 16. Jahrgang, S. 47, 1893), so nehmen diese Gebilde den Farbstoff, wenn auch nur schwach, auf. Die Präparate sind jedoch nicht haltbar; beim Eintrocknen werden sie undeutlich und später nicht mehr sichtbar. Ebenso lassen sie sich weder in Glycerin noch in Canadabalsam aufbewahren. Wir müssen hervorheben, dass diese Gebilde schon bei oberflächlicher mikroskopischer Besichtigung einen so zu sagen physikalischen Unterschied zeigen, in dem sie manchmal stärker glänzend, ein anderes Mal mehr matt erscheinen. Die stärker glänzenden Formen nehmen überhaupt keine Farbe auf, die matt erscheinenden lassen sich nach längerer Behandlung, wenn auch nur schwach, tingiren.

Da die Auffindung dieser Mikroben in den Blutpräparaten ziemlich schwierig ist, so ist es zweckmässig, vorerst die Blutkörperchen durch Wasserzusatz zu zerstören. Mit weniger als dem gleichen Volumen destillirten Wassers versetzt, wird das Blut sofort lackfarben und bei mikroskopischer Besichtigung, jetzt, wo die Blutkörperchen zerstört sind, sind die runden Gebilde viel leichter zu finden. Immerhin

ist ihre Zahl im Blute nicht so gross und namentlich nicht gleichmässig. In einzelnen Präparaten sieht man sie nur vereinzelt, in anderen kann man ihrer 20 und mehr im Gesichtsfelde zählen. Ihre grösste Menge findet man bei solchen pestkranken Thieren, welche lange fiebern. Solchen protrahirten Krankheitsverlauf und meistens mit letalem Ausgang, kann man leicht bei Kälbern hervorrufen, wenn man sie mit Serum von Kälbern, die die Pest überstanden haben, vorimmunisirt. Wir kommen bei Besprechung der Immunisation noch einmal hierauf zurück. — Kälber, die nach Ausbruch des Fiebers 8 bis 10 Tage lang eine Temperatur von 41° und darüber haben, enthalten nicht allein im Blute, sondern in allen Organen und im Verdauungstractus in bedeutend grösseren Mengen diese blassglänzenden, runden Gebilde; eine Thatsache, welche als Beweis für die Specificität dieses Mikroben angesehen werden kann. — In solchen Fällen gelang es durch Ueberimpfungen von der Magenschleimhaut, von der Leber und vom Blute auf die oben angeführten Nährböden den blassglänzenden Mikroben in Culturen zu erhalten und sind die mit den Culturen inficirten Kälber sämmtlich an typischer Rinderpest zu Grunde gegangen.

Noch auf eine andere Weise lässt sich die Gegenwart dieses Mikroben im Blute demonstriren. Ein wesentliches Hinderniss für ihre Beobachtung ist die eintretende Blutgerinnung. Um diese zu vermeiden, werden hohe Glascylinder oder Probirröhrchen zu einem Drittel mit 0.6proc. NaCl-Lösung, die noch 1 pro Mille neutrales Natriumoxalat enthält, gefüllt. Man lässt hierauf direct aus der Vene nicht mehr als das gleiche Blutvolumen hineinfliessen, schüttelt um und lässt an einem ruhigen Orte stehen. Das Blut, namentlich von Kälbern, die schon nahe dem Tode sind, gerinnt nicht oder es bilden sich nur spärliche Gerinnsel. Nach zwei- bis viertägigem Stehen haben sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt und die oberste Schicht der Blutkörperchen enthält meist zahlreich diese charakteristischen blassglänzenden Gebilde. Ihr specifisches Gewicht ist also kleiner wie das der rothen Blutzellen. Ueberhaupt machten wir die Beobachtung, dass sie auch in flüssigen Nährlösungen am leichtesten in dem oberen Drittheil der Flüssigkeit zu finden sind. Wird Galle oder Harn von pestkranken Thieren centrifugirt, so ist nicht allein der Bodensatz, sondern auch die oberste Flüssigkeitsschicht infectiös. Beim Eintrocknen müssen diese Organismen sehr leicht und mit den Luftströmungen fortbeweglich sein. Es liegt vielleicht darin der Grund, dass die Rinderpest bei den Wiederkäuern, ähnlich wie die Masern beim Menschen, so ausserordentlich ansteckend ist. — Bezüglich der Frage, ob der Mikrobe nur frei in der Blutflüssigkeit oder auch in den morphotischen Elementen, speciell den rothen Blutzellen, enthalten ist, haben wir Folgendes beobachtet:

1. Lässt man Blut, namentlich von lange fiebernden Kälbern, zwei bis drei Tage ruhig stehen und fertigt hierauf ein mikroskopisches Präparat aus der obersten Blutschicht, so sieht man manchmal, jedoch nicht immer, dass die rothen Blutzellen wie in Fragmente zerfallen sind und inmitten der Fragmente den blassrunden Mikroben. An einzelnen rothen Blutkörperchen ist diese Fragmentirung nur angedeutet, während sich in ihrem Innern eins bis drei solcher blassen Körperchen befinden.

2. Wird Pestblut in möglichst dünner Schicht auf ein Objectglas aufgetragen, an der Luft getrocknet, hierauf in Alkoholäther liegen gelassen und dann mit dem

Dreifarbengemisch von Biondi gefärbt, mit Alkohol abgewaschen und in Canadabalsam untersucht, so sind in einzelnen rothen Blutzellen braunroth gefärbte Gebilde zu sehen, die möglicherweise der specifische Mikrobe oder seine Entwickelungsform sind.

In weissen Blutzellen haben wir nicht färbbare, blassglänzende Gebilde gesehen, die allem Anschein nach unser Mikrobe sind. Dass sie von den weissen Blutzellen aufgenommen werden, dafür spricht die constant nach Abfall der Temperatur vermehrte Leukocytenzahl im Blute pestkranker Thiere. Aber nicht allein von den Leukocyten, sondern auch von den Amöben, worauf wir weiter unten zurückkommen werden, scheinen sie aufgenommen zu werden.

Ueber die Vermehrungsweise dieses Mikroben können wir Folgendes mittheilen: Unter den mehr mattglänzenden, runden Kugeln sieht man hier und da je zwei — eine grössere und eine kleinere — mit einander verwachsen, einer knospenden Hefe mit ihrer Tochterzelle vergleichbar. Direct haben wir beobachtet, wie unter leisen Drehungen an der grösseren zunächst eine Ausbuchtung und hernach die Abschnürung einer dritten sich vollzog. Der Vorgang dauerte etwa eine Viertelstunde. Ob eine Vermehrung auf eine andere Weise stattfindet, darüber möchten wir uns vorläufig jeder Aeusserung enthalten, obgleich einzelne Beobachtungen uns dafür zu sprechen scheinen; auch können wir nicht angeben, auf welche Weise die mehr birnenförmigen und spitzen Formen, die gerade die virulentsten sind, entstehen.

Auf den genannten Nährböden cultivirt, geht dieser Mikrobe nach kurzer Zeit zu Grunde. Während Organe der an Pest gefallenen Thiere bei niedrigen Temperaturen in 10proc. NaCl-Lösung ein halbes Jahr und darüber ihre Virulenz bewahren, ist es uns bis jetzt nur zweimal gelungen, mit vierter Generation tödtliche Pesterkrankung beim Kalbe hervorzurufen. Mit der ersten und zweiten Uebertragung gelingt es ziemlich sicher, Pest hervorzurufen, mit der dritten öfters nicht mehr. Es kommt übrigens hierbei wesentlich auf die Cultur an. Durch längere Beschäftigung haben wir eine gewisse Uebung in der Erkennung virulenter Culturen erlangt, so dass wir durch mikroskopische Besichtigung der injicirten Cultur ziemlich sicher voraussagen konnten, ob das inficirte Thier an Pest erkranken wird oder nicht. — Dass unsere Culturen nicht eine einfach mechanische Uebertragung des Contagiums waren, dafür spricht die Thatsache, dass wir nur auf den oben genannten Nährsubstraten infectiöses Material erzielen konnten. Culturen auf Gelatine, Bouillon, Serum, Hämoglobinlösungen, Eiern, Kartoffeln, verschiedenen Pflanzeninfusen (Heu, Hafer, Bierwürze) mit verschiedenem Gehalt an Alkalisalzen und sonstigen Zusätzen waren nicht infectiös, auch in erster Generation; ebenso die von Winogradsky für Culturen der Nitrit- und Nitratbacterien empfohlenen Nährlösungen. Auch Culturen auf mucinhaltigem Nährboden, Peptonsalz oder unorganischem Agar bei Zimmertemperatur oder Bruttemperatur und Luftausschluss waren unwirksam. Dass die Virulenz der Culturen von anscheinend unbedeutenden Momenten abhängig ist, das haben wir namentlich bezüglich der Temperatur beobachtet. Wiederholt sahen wir, dass Kälber mit Culturen aus erster resp. zweiter Generation aus Galle resp. Munderosion, die bei 37.5° gestanden sind, geimpft, nur leicht erkrankten und genasen. Wurden dann die gleichen Kälber mit der gleichen Cultur, die aber

Tage lang bei 37.5 bis 38° und nur die letzten 24 Stunden bei 40° gestanden, inficirt, so erkrankten sie schon am zweiten resp. dritten Tage mit Temperaturen über 41°, heftigem Stöhnen, typischen Auflagerungen und Erosionen an den Lippen und Zungen und gingen am siebenten resp. achten Tage zu Grunde. Es empfiehlt sich ferner, jeden Tag zu überimpfen und die Culturen längere Zeit — fünf bis acht Tage — bei der Bruttemperatur stehen zu lassen. Zusatz von Kochsalz, namentlich zu Pepton, begünstigt die Virulenz, hindert auch die Ueberwucherung der Cultur durch Bacterien. Unter 16 Thieren (12 Kälber, 2 Ziegen und 2 Schafe), die von uns mit Culturen geimpft und an Pest gestorben sind, war nur ein einziges Kalb mit der ersten Generation, die zehn Tage bei Bruttemperatur gestanden und wo die gleiche, zwei Tage alte Cultur wirkungslos war, inficirt. Von den übrigen erhielten acht Thiere die zweite, fünf die dritte und zwei die vierte Generation. Bei der Vergänglichkeit der Culturen und den vielen sonstigen Eigenthümlichkeiten dieses Mikroben wäre es voreilig, ihn schon jetzt in eine bestimmte Classe unterbringen zu wollen. Dies kann erst nach gründlicherer Erforschung seiner Natur und seiner Lebensbedingungen geschehen. Damit wird voraussichtlich unsere Kenntniss der Aetiologie einer ganzen Gruppe menschlicher Infectionskrankheiten, wie Pocken, Scharlach, Masern u. s. w., einen wesentlichen Fortschritt machen.

Alle Organe und Säfte pestkranker Thiere enthalten den Pestmikroben. Wir betonen dies namentlich den neuesten Aeusserungen Koch's gegenüber. In seinen Berichten an den Staatssecretär für Landwirtschaft in Capstadt (Centralbl. f. Bact. **21**, 531) schreibt Koch, „er sei berechtigt zu sagen, dass die Galle den Ansteckungskeim der Rinderpest nicht enthält" und (l. c. S. 536) „dass er mit der Galle von an Rinderpest gefallenen Thieren gesunde Thiere immun machen kann". In diesem Falle genügt eine einmalige subcutane Einspritzung von 10 ccm. Diese Immunität setzt am zehnten Tage ein und ist von solcher Wirkung, dass selbst nach vier Wochen 40 ccm Rinderpestblut eingespritzt werden können. — Unsere, vor mehr als einem Jahre mit der Galle angestellten und vor Kurzem wiederholten Experimente haben ein ganz anderes Resultat ergeben. Acht Kälber, denen Galle oder Culturen aus Galle auf Mucin oder Peptonsalz subcutan injicirt wurden, sind alle an typischer Pest zu Grunde gegangen. Davon erhielt ein Kalb 2 ccm drei Tage alter, ein anderes 3 ccm fünf Tage alter Pestgalle. In einem anderen Versuche wurde vier Tage alte Pestgalle centrifugirt und einerseits der Bodensatz, andererseits die klare obere Schicht je einem Kalbe injicirt. Beide Thiere starben an der Pest. Die vier anderen Kälber sind an den Culturen aus der Galle in erster bis dritter Generation zu Grunde gegangen. Erst 13 Tage nach dem Tode des Thieres aufbewahrte Pestgalle, gesunden Kälbern injicirt, blieb unwirksam. Als wir einen Monat später einem solchen Kalbe 5 ccm einer Pestcultur in dritter Generation subcutan injicirten, starb das Thier an typischer Pest. Ein anderes Kalb, das ebenfalls nach der Injection 13 Tage alter Pestgalle nicht erkrankte, wurde in den Stall, wo pestkranke Thiere standen, übergeführt. Es inficirte sich spontan und starb ebenfalls an der Pest.

Wird Blut pestkranker Thiere mit dem gleichen Volumen destillirten Wassers versetzt und nach Zerstörung der rothen Blutzellen durch Fliesspapier ein- bis zwei-

mal filtrirt, so bleibt es infectiös. Im Bodensatze des anscheinend klaren Filtrates haben wir wiederholt die blassglänzenden Körperchen gefunden. Lässt man jedoch solches filtrirtes Blut vier bis sieben Tage bei Zimmertemperatur stehen, so verliert es seine Infectionsfähigkeit. Thiere, die 5 bis 10 ccm davon subcutan erhielten, erkrankten gar nicht, zeigten nicht einmal eine Temperaturerhöhung. Sie wurden aber, selbst durch zwei- bis dreimalige Wiederholung solcher Injectionen, nicht immunisirt. Ein Kalb und drei Ziegen, mit filtrirtem Blute vorbehandelt, und dann mit 5 ccm virulenten Materials inficirt, erkrankten sämmtlich an der Pest. Nur eine Ziege, welche das erste Mal vier Tage, dann nach sechs Tagen nur noch zwei Tage mit destillirtem Wasser gestandenes Blut, und vier Tage später infectiöses Material erhielt, erkrankte zwar schwer, erholte sich aber am neunten Krankheitstage und genas. — Magensaft von Hunden (ein Theil Magensaft, ein Theil physiol. Kochsalzlösung und ein Theil defibrinirtes Pestblut) hebt die Virulenz des Blutes schon nach 20 Stunden auf. Das Gleiche ist der Fall beim Zusammenmischen von Magensaft mit dem Organextracte pestkranker Thiere. Diese Gemische immunisiren aber nicht.

Dass das Serum von Thieren, welche die Pest überstanden haben, immunisirende Eigenschaften hat, haben wir schon vor mehr als 1½ Jahren gefunden. Nach unseren Beobachtungen, die wir jedoch mit Vorbehalt mittheilen, da eine Wiederholung dieser Versuche im Grossen nothwendig ist, können Kälber mit dem Serum immuner Schafe immunisirt werden. Wir besitzen eine Färse, die im Februar 1896 mit Schafserum immunisirt wurde, seither dreimal virulentes Pestmaterial, zuletzt im April 1897, injicirt bekam und gar nicht mehr darauf reagirte. Weitere Versuche werden zeigen, ob diese Beobachtung praktischen Werth haben wird.

Man muss überhaupt mit Schlussfolgerungen bei der Immunisation gegen Rinderpest sehr vorsichtig sein. Die Verschiedenheit der Rassen kommt hier sehr in Betracht. Andererseits passirt es öfters, dass Kälber, mit abgeschwächtem Material geimpft, schwer, mit Temperatur über 41°, erkranken, dann genesen und einige Wochen später mit infectiösem Material geimpft, oder mit pestkranken Thieren zusammengebracht, an typischer Pest zu Grunde gehen. Nicht genug und bei verschiedenen Rassen erprobte Methoden können nur zur Verschleppung und Verbreitung der Epidemien beitragen. Mit dem Serum immuner Kälber lassen sich Kälber nicht sicher immunisiren. Nachdem wir sahen, dass eine einmalige subcutane Injection von 40 ccm immunen Serums nicht genügt, wurde drei bis sechs Monate alten Kälbern, in Intervallen von je acht Tagen, je 40 ccm, im Ganzen also 80 ccm gegeben. Als auch diese Mengen vor Infection nicht schützten, haben wir Kälber während drei Wochen vorimmunisirt, wobei sie in drei Portionen im Ganzen also 150 bis 170 ccm Serum bekamen.

Der einzige Erfolg davon war ein protrahirter Verlauf der Krankheit.

Die Thiere fiebern lange und bei der Section der gestorbenen Thiere findet man im Verdauungstractus neben frischen Auflagerungen und Erosionen auch in Heilung begriffene Partien der Schleimhaut. Aehnlich und doch etwas anders und sehr interessant verhielt sich ein Kalb, das mit Serum von einem immunen Ziegenbocke vorbehandelt war. Das halbjährige Kalb erhielt während drei Wochen, in

drei gleichen Portionen im Ganzen 150 ccm davon. Acht Tage nach der letzten Injection wird es mit pestkranken Kälbern zusammengestellt und erkrankt zehn Tage später mit einer Temperatursteigerung von 39.1° auf 40.5°. Am nächsten Tage Durchfall und Steigerung der Temperatur auf 41°, die auch bis zum Tode, der am 12. Erkrankungstage eintrat, auf dieser Höhe bleibt. Der Durchfall hielt fortdauernd an und das Thier ging unter langsamem Kräfteverfall zu Grunde. Während der ganzen Zeit hatte das Kalb keine Ablagerungen und Erosionen an der sichtbaren Schleimhaut der Maulhöhle, was auch die Section bestätigt, indem nur an der Zungenwurzel, neben der Epiglottis und im obersten Theil des Oesophagus kleine punktförmige Auflagerungen und Erosionen gefunden wurden. An der Portio pylor. sind vereinzelte flache Erosionen mit Fibrinmembranen bedeckt und in Heilung begriffen. Die Schleimhaut des Dünndarms ist geschwollen, mässig hyperämisch. Die Peyer'schen Plaques sind stark geschwollen, hyperämisch mit einer dicken fibrinösen Schwarte bedeckt, nach deren Abheben die Plaques schon ganz verheilt, glatt und pigmentirt erscheinen. Auf der Dickdarmschleimhaut einzelne Blutextravasate.

Das Rectum mässig hyperämisch. Die Leber nicht gelb, dunkelroth gefärbt und etwas brüchig. Gallenblase stark gefüllt. Die Nierenrinde grau verfärbt. Die Grenzschicht nicht hyperämisch. Im Herzen geronnenes Blut. Keine Blutextravasate. Trachea etwas hyperämisch. Obere vordere Lungenlappen hepatisirt. Die übrige Partie ödematös. Rechte Lunge hyperämisch. Die Ränder emphysematös. Milz normal.

Die Heilkraft des Serums ist hier unverkennbar, nur war sie nicht genügend stark. Das Schafserum muss bedeutend stärkere Immunisationskraft haben. Das damit dauernd immunisirte drei Monate alte Kalb erhielt am 7. Februar 1896 20 ccm und fünf Tage später noch 20 ccm davon subcutan, im Ganzen also nur 40 ccm. Zwei Tage nach der letzten Seruminjection wurden ihm 5 ccm des durch Gaze filtrirten Extractes von pestkranken Organen injicirt. Ein mit dem gleichen Material parallel inficirtes Kalb ging an typischer Pest zu Grunde. Das immunisirte Kalb hatte am zweiten Tage nach der Infection eine Temperatur von 40.2°. Elf Tage lang fieberte das Kalb mit Temperaturen zwischen 40.1 bis 41.5°, worauf es sich vollkommen erholte. Während der Fieberzeit war die Fresslust stark vermindert und das Thier magerte ab. Die sichtbaren Schleimhäute (der Maulhöhle und Vagina) blieben die ganze Zeit normal, nicht hyperämisch und ohne Auflagerungen. An der Injectionsstelle entstand eine faustgrosse Geschwulst, die zwei Wochen nach der Injection, da sie fluctuirte, aufgeschnitten und der Eiter entleert wurde. Das Thier ist bis jetzt gegen die Pest völlig immun.

Wie zu erwarten war, wird virulentes Pestmaterial oder Blut, mit dem gleichen oder doppelten Volumen immunen Kalbsserums in vitro zusammengemischt, nicht neutralisirt. Auch können Kälber nach erfolgter Infection, selbst vor Ausbruch des Fiebers, durch Injectionen von immunem Serum (auch Schafserum) nicht gerettet werden.

Interessant ist die Beobachtung, dass Amöben, aus den Schleimhäuten und den Organen pestkranker Thiere gezüchtet, immunisirend wirken können. Wir fanden, dass nicht allein im Verdauungsrohr, im Uterus- und Nasenschleim, aber auch in

den inneren Organen, wie Leber, Milz, Niere, hier allerdings nicht constant, bei pestkranken Thieren Flagellaten und Amöben vorkommen und dass das unorganische Agar und Mucin ein vorzüglicher Nährboden zu ihrer Züchtung ist. Wir wollen an einem anderen Orte unsere Erfahrungen über die Form und die Vermehrung der von uns beobachteten Amöben mittheilen. Hier beschränken wir uns nur darauf, unser Verfahren zur Isolirung der Amöben, sowie die damit angestellten Infectionsversuche zu beschreiben. — Sofort nach dem Tode entnommene kleine Stückchen von Leber, Milz, Niere, Erosionen von den Lippen oder Zunge, Eiterpfröpfe aus den Peyer'schen Plaques, Magen-, Darm- oder Uterusschleimhaut werden auf unorganischen Agar übertragen und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Meistens schon nach 16 bis 20 Stunden findet man in dem trüben Rande rings um die hineingelegten Stückchen herum, bei mikroskopischer Besichtigung, ausser Bacterien auch die Amöben. Von hier werden sie auf flüssiges Mucin in Petrischalen übergetragen, wiederum auf 18 bis 20 Stunden bei Brut- und dann bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Ueberhaupt ist es zweckmässig, jede neue Ueberimpfung nur kurze Zeit bei Brut- und dann bei Zimmertemperatur zu belassen. Rathsam ist es ferner, sie von Zeit zu Zeit auf unorganischen Agar zu übertragen. Auf Mucin und Agar halten sich solche Culturen zwei bis drei Monate lang. Selbst wenn die Flüssigkeit eintrocknet, ist es nur nöthig, frische Mucinlösung zuzusetzen und kurze Zeit bei Bruttemperatur stehen zu lassen, um die encystirten Amöben wieder beweglich zu haben. Wir haben sie so bis zur 20. Generation, jedoch nie ganz frei von Bacterien, gezüchtet. Die Grösse dieser Amöben ist wechselnd von 2 bis 14 μ. Auf dünnflüssigen Nährböden (1 Proc. Agar oder Mucin) sind die Bewegungen des Ektoplasma viel lebhafter. Wir lassen die Frage offen, ob wir hier vorwiegend mit einer oder mehreren Species zu thun haben. Auf Heuinfus und Heuagar wachsen sie schlecht und sind jedenfalls von der Heuamöbe verschieden.

Für die Wiederkäuer sind die von uns isolirten Amöben nicht pathogen. In mehr als 20 Versuchen, wo wir Amöben, in verschiedenen Generationen und bei verschiedenen Temperaturen gezüchtet, Kälbern und Ziegen injicirten, sind uns nur zwei Kälber durch Amöbencultur in zweiter resp. dritter Generation an Pest zu Grunde gegangen. Andererseits wurden in Folge der Injectionen von Amöbenculturen zwei Kälber und eine Ziege gegen die Rinderpest immunisirt. Diese Fälle sind so bemerkenswerth, dass wir wenigstens einen hier kurz beschreiben wollen.

Ein drei Monate altes Kalb erhält am 5. November 1896 eine zweite Generation von Amöben, welche aus der Magenschleimhaut eines an Pest verstorbenen Kalbes auf unorganischem Agar bei 30° ausgewachsen sind. Die Cultur wurde auf gleiche Nährböden übergeimpft, nach zweitägigem Stehen bei 30° etwas von der oberflächlichen Schicht abgeschabt, in 0.6 proc. Kochsalzlösung suspendirt und dem Kalbe subcutan injicirt. Das Thier reagirte hierauf gar nicht, weder local, noch mit einer Temperatursteigerung. Am 11. November erhält das Kalb die gleiche Cultur. Sie stand vier Tage bei 30° und die zwei letzten Tage bei 37.5°. Die Amöben darin waren meistens encystirt, zwei bis drei μ gross und nur wenige grössere mit beweglichem Ektoplasma; ausserdem enthielt das Präparat sehr spärliche Bacterien. Auch auf diese Injection reagirt das Kalb gar nicht. Am 19. November wird ihm

von Neuem eine Amöbencultur injicirt. Die Cultur stammte aus dem Nasenschleim eines pestkranken Kalbes und zwar war es die vierte Generation, stets auf Agar übertragen. Es waren darin grössere bewegliche Amöben. Die Cultur, von der Oberfläche des Agar abgeschabt, wurde in 3 ccm 0.6 proc. Kochsalzlösung dem Kalbe subcutan injicirt. Auch hier blieb das Kalb gesund und hatte keine Temperaturerhöhung. Zehn Tage später, am 29. November, wird das Kalb mit 5 ccm virulenten Pestmaterials inficirt, worauf es nur einmal am dritten Tage mit einer Temperatursteigerung auf 40° reagirt. Das Kalb ist bis jetzt (20. Mai 1897) mitten unter den pestkranken Thieren gesund und reagirte auf wiederholte Injection virulenten Materials gar nicht. Ganz gleich verhielt sich noch ein Kalb und eine Ziege. Beide Thiere sind seit mehreren Monaten gegen Rinderpest völlig immun. Diese Befunde lassen uns vermuthen, dass die Amöben gleich wie die Bacterien auch den Mikroben der Rinderpest in ihre Leibessubstanz aufnehmen und sie abschwächen, wodurch die Immunisation zu Stande kommt. Es würde dies auch erklären, weshalb jüngere Amöbengenerationen von pestkranken Thieren in seltenen Fällen virulent sind. Auf Grund dieses Befundes, sowie der Beobachtung, dass das immune Serum einer entfernteren Wiederkäuerart stärker immunisirend wird, wie dies z. B. mit dem Schafserum für die Kälber der Fall ist, haben wir immune Wiederkäuer, ein Pferd und ein Schwein mit virulenter Cultur oder Rinderpestmaterial inficirt, um zu versuchen, ob mit dem Inhalt des an der Injectionsstelle entstandenen Abscesses Wiederkäuer gegen die Rinderpest nicht zu immunisiren sind. Ueber das Resultat dieser Versuche werden wir später berichten.

Zur Frage „Ueber das Verhalten des Diphtherieheilserums bei der Filtration durch das Chamberland'sche Filter“

von

S. Dzierzgowski.

Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **21**, 333. — Nach dem Referate von Dr. M. Hahn abgedruckt. Maly's Jahresber. **27**, 876.

Gegenüber de Martini (Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **20**, 796) stellt Verf. durch wiederholte Versuche fest, dass das Diphtherieheilserum beim Filtriren durch Chamberland'sche Kerzen Marke „F“, die vorher auf ihre völlige Undurchlässigkeit für Bacterien erprobt waren, weder einen Verlust an Heilkraft noch an Eiweissgehalt erleidet.

Ueber die Bestimmung der Kraft des antidiphtheritischen Heilserums

von

S. Dzierzgowski.

Arch. des sciences biolog. **6**, 1. — Врачъ (1897), Nr. 52. — Nach dem Referate von Dr. Pruszyński abgedruckt. Maly's Jahresber. **27**, 877.

Nach dem Verf. soll die toxische Einheit folgenden Bedingungen entsprechen: 1. Sie soll bei subcutaner Einführung Meerschweinchen von 500 g Gewicht innerhalb 48 Stunden tödten; 2. $^1/_3$ Theil derselben soll die geringste tödtliche Dosis für Meerschweinchen von 500 g sein; 3. $^1/_5$ Theil soll die tödtliche Dosis für Meerschweinchen von 250 g sein. Beim Fehlen der Meerschweinchen empfiehlt der Verf. die Tauben zur Bestimmung der Toxicitätseinheit zu benutzen.

Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten einiger Organe zu den diphtheritischen Toxinen

von

S. Dzierzgowski und **C. Onufrowicz.**

Arch. des sciences biolog. **6**, 41 — Nach dem Referate von Dr. J. Pruszyński abgedruckt. Maly's Jahresber. **27**, 892.

Um die Frage, ob die Toxine im Organismus in die entsprechenden Antitoxine umgewandelt werden, zu entscheiden, haben Verff. Untersuchungen an isolirten Organen angestellt analog den Versuchen von Schmiedeberg und Bunge über die Bildung der Hippursäure in den Nieren und den von Schröder über die Entstehung des Harnstoffs in der Leber. Die Hunde wurden durch Verblutung getödtet und das Blut, mit einer bestimmten Menge des diphtheritischen Toxins versetzt, durch die abgetrennten Organe in einem speciellen Apparate durchgeleitet. Bei der Durchleitung des Blutes durch die hinteren Extremitäten des Hundes, so wie auch durch die Leber, Milz und Nieren wurden stets negative Ergebnisse erhalten. Dies soll nach den Verff. abhängig sein: 1. von der Kürze der Zeit der Blutdurchleitung, 2. von der verringerten Leistungsfähigkeit der isolirten Organe, 3. von dem Fehlen der langsamen Anpassung zur Umwandlung der fremden Körper. Die zwei ersten Bedingungen, von der Methode selbst abhängig, waren nicht zu beseitigen; um den

dritten Einwand zu beseitigen, stellten Verff. Versuche an den Organen immuner Thiere an. Zu diesem Zwecke wurde das gegen Diphtherie immunisirte Pferd durch Verblutung getödtet, durch die isolirten Nieren wurden 2 Liter reines Blut, behufs der Entfernung des in den Organen enthaltenen Antitoxins, dann 1900 ccm Blut mit 100 ccm Toxin versetzt, durchgeleitet. Dabei wurden auch nur negative Resultate erhalten. Die Versuche sprechen also dafür, dass das Antitoxin nicht aus dem Toxin im Thierkörper entsteht.

Ueber die Gewinnung von Diphtherieheilserum von hohem Antitoxingehalt

von

P. Nikanorow.

Berliner klin. Wochenschr. (1897), Nr. 33. — Arch. des sciences biolog. 6, 57. — Inaug.-Dissert. Peter burg.

Im Winter des Jahres 1895 habe ich im Laboratorium des Prof. Nencki in Petersburg meine Versuche zur Aufklärung der Frage, durch welche Art der Immunisation gegen Diphtherie der grösste Gehalt an Antitoxin im Serum erreicht werden kann, begonnen. Meine Untersuchungen habe ich Anfangs an Meerschweinchen angestellt, indem ich verschiedenen Thieren nur Toxin, anderen Anfangs nur Antitoxin, später Toxin, anderen gleichzeitig Toxin und Antitoxin, wieder anderen Bouillonculturen lebendiger Diphtheriebacillen und gleichzeitig Heilserum subcutan einspritzte. Sehr bald sah ich ein, dass Meerschweinchen für diese Versuche viel zu kleine Thiere sind. Auch Hunde waren wegen zu grosser Empfindlichkeit wenig geeignet, dagegen waren Ziegen leicht zu immunisiren. Sie vertrugen relativ viel leichter die Toxininjectionen, die Giftlösung wurde rasch resorbirt und es bildeten sich keine Nekrosen an der Injectionsstelle. Ich immunisirte zwei gleichaltrige Thiere, eine Ziege und einen Ziegenbock, derart, dass der Bock nur Diphtherietoxin, die Ziege gleichzeitig Toxin und auf die andere Seite des Körpers Antitoxin bekam. Die erste Injection erhielten die Thiere am 9. December 1895. Die erste Blutprobe von beiden Thieren entnahm ich am 16. Januar 1896. Der Antitoxingehalt im Serum der Ziege entsprach 40 Immunitätseinheiten in einem Cubikcentimeter, nach der Behring-Ehrlich'schen Methode bestimmt. Der Antitoxingehalt im Serum des Bockes entsprach in einem Cubikcentimeter nur zehn Einheiten. Zum zweiten Male entnahm ich das Blut am 19. Februar. Jetzt enthielt das Serum der Ziege in einem Cubikcentimeter 45 I.-E., das Serum des Bockes 15 I.-E. Es enthielt also das Serum der Ziege nach dem ersten Aderlasse viermal, nach dem zweiten dreimal mehr Antitoxin als das des Bockes, der nur mit Toxin immunisirt war. (Eine kurze Mittheilung über dieses Resultat habe ich russisch im Wratsch, Jahrgang 1896, No. 31 veröffentlicht.) (Siehe diesen Band S. 586.) Ich begann hierauf gleichzeitig mit Toxin und Antitoxin ein Pferd zu immunisiren.

Leider musste ich diese Untersuchungen plötzlich unterbrechen, indem ich in dienstlicher Stellung nach Tomsk versetzt wurde. Ich fand aber hier, dank der Liebenswürdigkeit des Professors A. Sudakow und der Unterstützung seines Assistenten, des Dr. P. Butjagin, die Möglichkeit, meine Untersuchungen fortzusetzen.

Ich begann die Immunisation hier gleich an einem Pferde und zwar derart, dass das Thier anfangs nur Heilserum injicirt bekam. Ich hoffte dadurch einen besseren Einblick in das Wesen der Immunisation zu gewinnen. Das Diphtherieheilserum, das ich aus Petersburg mitgenommen hatte, enthielt dort in einem Cubikcentimeter 40 I.-E und war mit 0.5 Proc. Phenol versetzt. Während des Transports wurde das Serum zeitweise dem Lichte ausgesetzt und enthielt nach einer in Tomsk ausgeführten Bestimmung in einem Cubikcentimeter nur 35 I.-E.

Die erste Antitoxininjection erhielt das Pferd am 18. Mai 1896, die letzte am 28. August; die Vorbehandlung mit Serum dauerte also 3 Monate und 10 Tage und während der Zeit erhielt das Pferd im Ganzen 1902 ccm Serum. Während der Serumbehandlung war der Appetit des Pferdes gut und es nahm an Gewicht zu. Ich muss bemerken, dass das sechs Jahre alte Pferd ein gewöhnliches Arbeitspferd und ziemlich abgemagert war. Nur nach Injectionen grösserer Serummengen traten Anschwellungen an der Injectionsstelle auf, die jedoch bald resorbirt wurden. Die Temperatur stieg dabei etwas, doch nie über 39°. Am 14. September, 17 Tage nach der letzten Seruminjection (520 ccm), entnahm ich dem Thiere etwa 400 ccm Blut und untersuchte das Serum auf den Antitoxingehalt. Drei Meerschweinchen, welche auf 40, 20 und 10 I.-E. in einem Cubikcentimeter geprüft waren, starben, so dass der Antitoxingehalt des Serums gleich Null angenommen werden kann. Vom 20. September bis 25. November wurde das Pferd nur mit Toxin immunisirt. Innerhalb dieser 2 Monate und 5 Tage erhielt das Pferd in 12 Injectionen im Ganzen 2044 ccm Toxin. Die Stärke des Toxins war bei den vier ersten Einspritzungen = 0.05, bei den sechs folgenden = 0.08 und bei den zwei letzten = 0.15. Am 10 December, 15 Tage nachdem das Pferd die letzte Toxineinspritzung (725 ccm) bekam, wurden ihm 2 Liter Blut entnommen, die mir 800 ccm Serum gaben. Das Meerschweinchen, das mit diesem Serum auf 100 I.-E. in einem Cubikcentimeter geprüft wurde, zeigte ein geringes Infiltrat. Zwei andere, auf 90 und 80 I.-E. geprüfte Meerschweinchen, zeigten nicht die geringste Reaction, so dass die Stärke dieses Serums = 90 I.-E. in einem Cubikcentimeter angenommen wurde. Auf die letzte Toxininjection (725 ccm) bekam das Pferd eine recht grosse Anschwellung, die auch auf die Vorderbeine überging und die Temperatur stieg auf 39.4°. Diese starke Reaction veranlasste mich, bei den folgenden Toxininjectionen gleichzeitig auch Antitoxin einzuspritzen. Am 17. December erhielt das Pferd einen Liter Toxin, dessen Stärke = 0.07 war und auf die andere Seite 40 ccm Serum von 40 I.-E. Am 31. December $1^1/_2$ Liter Toxin von der Stärke 0.08 und 130 ccm des gleichen Serums. Am 20. Januar 1897 wurden dem Thiere 3 Liter Blut entnommen, die 1200 ccm Serum lieferten. Die damit auf 150, 200, 250, 300 und 320 I.-E. in einem Cubikcentimeter geprüften Meerschweinchen zeigten nicht die geringste Reaction. Erst die auf 350 und 400 I.-E. geprüften Thiere zeigten an der Injectionsstelle ziemlich starkes Infiltrat. Die Stärke dieses Serums war also = 320 I.-E. in einem Cubikcentimeter. Ich sandte dieses Serum an Professor Nencki nach Petersburg, wo die von Dr. Dzierzgowski ausgeführte Nachprüfung ergab, dass das auf 300 I.-E. geprüfte Meerschweinchen nicht das geringste, das auf 350 I.-E. geprüfte aber ein ziemlich starkes Infiltrat bekam. Im Institut für experimentelle Medicin in Petersburg wird als Ueberschreitungspunkt der Neutralisationsgrenze nicht der Tod des Meerschweinchens, sondern das Auftreten des Infiltrates angenommen. Dem Serum hatte ich 0.5 Proc. Phenol zugesetzt.

Der besseren Uebersicht halber lasse ich hier das ausführliche Protokoll dieses Immunisirungsversuches folgen.

Pferd „Waska“, mittelgross, 6 Jahre alt.

9. V. Um 9 Uhr Abends wird dem Pferde 1 ccm Mallein injicirt. Die Temperatur des Pferdes vor der Injection war normal.

10. V. An der Injectionsstelle geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 37.9°.

11. V. Heute und an den folgenden Tagen war die Temperatur nicht über 38,1°. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 38.1°.

18. V. Injection von 2 ccm Serum subcutan am linken Schulterblatt. Das Serum enthält 35 I.-E. und 0.5 Proc. Phenol. Temperatur: Morgens 37.6° — Abends 37.3°.

20. V. Injection von 4 ccm am rechten Schulterblatt. An der Injectionsstelle unbedeutende Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.3° — Abends 37.7°.

24. V. Injection von 6 ccm Serum am linken Schulterblatt. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.6° — Abends 37.4°.

31. V. Injection von 10 ccm Serum am rechten Schulterblatt. Keine Reaction, Temperatur: Morgens 37.4° — Abends 37.8°.

5. VI. Injection von 20 ccm Serum am linken Schulterblatt. Die Injectionsstelle etwas schmerzhaft und geschwollen. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 38.0°.

10. VI. Injection von 30 ccm Serum rechts. Kleine Anschwellung, die bald verschwand. Temperatur: Morgens 37.7° — Abends 37.9°.

15. VI. Links 50 ccm Serum injicirt. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 37.8°.

17. VI. An der letzten Injectionsstelle Verhärtung. Heute und die folgenden Tage Temperatur etwas erhöht. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 38.5°.

25. VI. Rechts 00 ccm Serum injicirt. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.0° — Abends 37.8°.

1. VII. Links 100 ccm Serum injicirt. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 38.8°.

9. VII. Rechts 175 ccm Serum injicirt. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.6°.

15. VII. Die Anschwellung verschwand. Temperatur: Morgens 37.8° — Abends 38.4°.

18. VII. Links 215 ccm Serum injicirt. Temperatur: Morgens 38.4° — Abends 39.1°.

19. VII. Die Injectionsstelle geschwollen. Temperatur: Morgens 38.8° — Abends 39.1°.

26. VII. Die Anschwellung verschwand. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.6°.

30. VII. Rechts 290 ccm Serum injicirt. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.7°.

31. VII. Mässige, diffuse, harte Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.4° — Abends 38.9°.

1. VIII. Die Anschwellung kleiner. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 39.3°.

4. VIII. Anschwellung verschwunden. An der Injectionsstelle Verhärtung. Temperatur: Morgens 38.6° — Abends 38.6°.

10. VIII. Die Verhärtung resorbirt. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 38.4°.

13. VIII. Links 420 ccm Serum injicirt. Temperatur: Morgens 38.1° — Abends 38.4°.

14. VIII. Diffuse, empfindliche, zwei Hände breite Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.6° — Abends 38.2°.

18. VIII. Anschwellung verschwunden. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 38.1°.

28. VIII. Rechts 520 ccm Serum injicirt. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 38.2°.

29. VIII. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.0°.

Im Ganzen 1902 ccm Serum injicirt.

14. IX. Dem Pferde 400 ccm Blut entnommen. Mit dem Serum dieses Blutes auf 40, 20 und 10 I.-E. geprüfte Meerschweinchen sind sämmtlich gestorben. Das Blut des Pferdes enthält also kein Antitoxin. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.2°.

20. IX. Injection von 1 ccm Diphtherietoxin, dessen Stärke war = 0.05 g. Temperatur: Morgens 37.4° — Abends 39.5°.

21. IX. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 39.0°.

23. IX. Rechts 2 ccm des gleichen Toxins injicirt. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 38.5°.

24. IX. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.0° — Abends 38.3°.

27. IX. Links 4 ccm Toxin injicirt. Temperatur: Morgens 38.1° — Abends 38.5°.

28. IX. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 37.8° — Abends 37.5°.

2. X. Rechts 9 ccm Toxin injicirt. Temperatur: Morgens 38.1° — Abends 38.5°.

3. X. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.4° — Abends 38.2°.

7. X. Links 13 ccm Toxin, von der Stärke = 0.08 g. Temperatur: Morgens 38.1° — Abends 38.1°.

8. X. Keine Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.1° — Abends 37.8°.

12. X. Rechts 30 ccm Toxin. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.3°.

13. X. An der Injectionsstelle geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.5° — Abends 38.5°.

21. X. Rechts 60 ccm Toxin. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 37.5°.

22. X. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.4° — Abends 38.5°.

28. X. Links 120 ccm Toxin injicirt. Temperatur: Morgens 37.7° — Abends 37.8°.

29. X. Geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 38.6°.

2. XI. Rechts 195 ccm Toxin. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 38.3°.

3. XI. An der Injectionsstelle geringe Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.0° — Abends 38.4°.

7. XI. Links 335 ccm Toxin injicirt. Temperatur: Morgens 38.2° — Abends 38.0°.

8. XI. Die Injectionsstelle geschwollen. Temperatur: Morgens 38.8° — Abends 38.3°.

13. XI. Injection von 550 ccm Toxin von der Stärke = 0.15 g. Temperatur: Morgens 37.7° — Abends 38.0°.

14. XI. An der Injectionsstelle ziemlich grosse Anschwellung. Temperatur: Morgens 38.8° — Abends 38.9°.

25. XI. Links 725 ccm Toxin injicirt. Temperatur: Morgens 37.7° — Abends 38.2°.

26. XI. An der Injectionsstelle grosse diffuse Anschwellung, die bis an das Knie des linken Vorderbeins reicht. Temperatur: Morgens 39.0° — Abends 39.4°.

Im Ganzen hat das Pferd bis jetzt 2044 ccm Toxin injicirt erhalten.

10. XII. Entnommen 2 Liter Blut und daraus erhalten 800 ccm Serum. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 38.3°. Das auf 100 I.-E. geprüfte Meerschweinchen hatte an der Einstichstelle geringe Infiltration. Die auf 80 und 90 I.-E. geprüften Thiere blieben reactionslos. Der Antitoxingehalt des Serums entspricht also 90 I.-E. in 1 ccm.

17. XII. Rechts Injection von 1000 ccm Toxin von der Stärke = 0.07 g und links 40 ccm Serum von 40 I.-E. Temperatur: Morgens 38 2° — Abends 38.4°.

18. XII. Ziemlich grosse Geschwulst an der Injectionsstelle des Toxins. Morgens 39.0° — Abends 39.4°.

19. XII. Die Anschwellung erstreckt sich auf das rechte Vorderbein bis zum Knie. Temperatur: Morgens 38.9° — Abends 38.5°.

31. XII. Links Injection von 1500 ccm Toxin und rechts 130 ccm Serum; die Stärke des Giftes = 0.08, die des Serums = 40 I.-E. Temperatur: Morgens 38.0° — Abends 39.2°.

1. I. 97. An der Injectionsstelle des Toxins starke Anschwellung, an der des Serums nur geringe. Temperatur: Morgens 39.6° — Abends 39.7°.

11. I. Die Anschwellung, wo das Toxin injicirt war, bedeutend geringer, an der Injectionsstelle des Serums keine mehr. Temperatur: Morgens 38.3° — Abends 38.7°.

20. I. Dem Pferde 3 Liter Blut entnommen, woraus 1200 ccm Serum erhalten. Die damit auf 150, 200, 250, 300 und 320 I.-E. geprüften Meerschweinchen blieben reactionslos. Die auf 350 und 400 I.-E. geprüften hatten Infiltrate. Stärke des Serums = 300 I.-E. in 1 ccm. Temperatur: Morgens 37.5° — Abends 38.5°.

Von der Höchster Fabrik wird ein Diphtherieserum in den Handel gebracht, das ebenso stark wie das von mir erhaltene ist. Das Herstellungsverfahren dieses Serums ist unbekannt. Selbstverständlich sind verschiedene kleine Modificationen des Principes, das mir so starkes Serum gab, möglich. Ich bin augenblicklich mit Immunisirung mehrerer Pferde beschäftigt, wobei ich die mir zweckmässig scheinenden Variationen dieses Verfahrens berücksichtigen werde. Schon jetzt möchte ich aber hervorheben, dass dieses Verfahren für die Herstellung noch anderer Antitoxine, wie z. B. des Tetanus-, des Streptococcenantitoxins u. s. w., wie überhaupt für die ganze Serumtherapie, von Bedeutung sein wird.

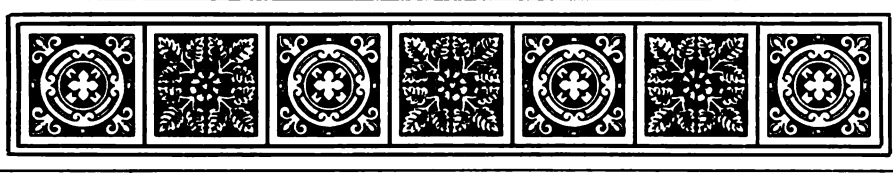
Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Nencki meinen tiefgefühlten Dank für seine Rathschläge und Anregung anlässlich dieser Untersuchung an dieser Stelle auszusprechen.

Zur Frage über den Einfluss von Steinkohle auf die Zusammensetzung der Luft in geschlossenen Räumen

von

K. Drżniewicz.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. machte Analysen von Gas, das er aus einer mit Steinkohle gefüllten Kammer erhielt. Dieses Gas wurde ebenfalls in einen luftdicht abgeschlossenen Käfig hineingeführt und dessen tödtliche Wirkung an Thieren (Mäusen, Meerschweinchen) untersucht. Auf Grund der von ihm dargestellten Untersuchungen kommt Verf. zu folgenden Schlussfolgerungen. In der Luft geschlossener Räume, unter Einfluss der dieselben ausfüllenden Steinkohle, bei gewöhnlichen Zimmertemperaturen unter 20° C. beobachtet man folgende Erscheinungen: es verringert sich bedeutend der Sauerstoffgehalt, indem er bisweilen auf Null heruntergeht und es sammelt sich ziemlich viel Kohlensäure (bis 6 Proc.) und leichte Kohlenwasserstoffe, hauptsächlich Sumpfgas, Methan (etwa 3 Proc.) an. Bei Erhöhung der Temperatur im Kohlenraum erfolgt schneller die Sauerstoffentziehung der in demselben enthaltenen Luft und die Ansammlung von Kohlensäure und Sumpfgas. Beimischungen von Kohlenoxyd enthält diese Luft nicht. Chronische Anämie und acute Erkrankungen, die sich bei Bergleuten in allgemeinen und örtlichen Krampfanfällen äussern, hängen hauptsächlich vom verringerten Gehalt und Armuth an Sauerstoff der Luft der Kohlengruben ab. Auf Grund vollständiger Aehnlichkeit und Analogie dieser Erscheinungen von Anämie und acuten Krampfanfällen bei Bergleuten mit denjenigen, die bei Heizern beobachtet werden, muss zugegeben werden, dass sowohl bei den Ersten, wie auch bei den Zweiten die Ursache dieser Erkrankungen eine und dieselbe ist: der Sauerstoffhunger.

1898

Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte

von

M. Nencki, N. Sieber und **C. Schumow-Simanowski.**

Centralbl. f. Bacter. u. Parasit. **23**, 840. — Gazeta Lekarska (1898), Nr. 22 u. 23.

Es ist bekannt, dass die Toxine, die, in minimalsten Dosen subcutan oder intravenös injicirt, sicher den Tod des Versuchsthieres unter typischen Erscheinungen zur Folge haben, per os oder per rectum den gleichen Thieren in viel grösseren Mengen injicirt, nicht giftig sind. So verhalten sich erwiesenermaassen das Abrin, das Ricin, das Toxalbumin im Blutserum der Muräniden, das Tuberculin, das Cholera-, Tetano- und Diphtherietoxin und das Gift von Bac. pyocyaneus. Vom Schlangengift sagen Weir Mitchell und E. Reichert[1]), dass es nur dann vom Magen aus toxisch wirkt, wenn der Magen leer ist, besonders wenn es sich um das leichter diffusible Cobragift handelt. Nach Thomas Fraser[2]) verändert Magensaft das Schlangengift nicht. P. Gibier[3]) zeigte, dass auch die Antitoxine vom Verdauungscanal aus unwirksam sind. Die bei subcutaner Injection tausendfach schützenden Dosen des Tetano- resp. Diphtherieantitoxins schützen, ins Rectum injicirt, nicht gegen die einfach tödtliche Giftdosis. Nach der kürzlich erschienenen Mittheilung von F. Ransom[4]) werden vom Tetanotoxin Mengen, die der 300000fachen tödtlichen Minimaldose für ein Meerschweinchen entsprechen, bei Injectionen in den Magen und etwa die halbe Dose nach der Injection in das Rectum, von diesen Thieren ohne jeden Schaden vertragen. — Der Grund dieser Erscheinung wurde von mehreren Forschern in der Säure des Magensaftes gesucht. Sowohl das Diphtherie- wie das Tetanotoxin werden schon durch ganz verdünnte Säuren in ihrer toxischen Wirkung geschwächt resp. ganz zerstört. Nach Weir Mitchell und E. Reichert ist Schlangengalle unwirksam, aber künstlicher Magen- und Pankreassaft vom Schwein zerstören d

---

[1]) Maly's Jahresber. **17**, 332.
[2]) Centralbl. f. Bact. **23**, 40.
[3]) Semaine méd. 1896, **16**, 202.
[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1898, Nr. 8.

Schlangengift in 4 resp. 24 Stunden. Dagegen findet Th. Fraser, dass bei der afrikanischen Cobra schon die Beimischung von 0.0001 g Galle pro kg Thier die tödtliche Minimaldosis des Giftes derselben Schlange unwirksam machte. In ähnlicher Weise, wenn auch schwächer, wirkt die Galle von unschädlichen Schlangen und von anderen Thieren. Die Galle der nicht giftigen Schlangen war erst bei der Dosis von 0.006 bis 0.01 g wirksam, von Rindergalle sogar erst Dosen von 0.02 g aufwärts. Die giftneutralisirende Wirkung der Schlangengalle und auch der Galle der Muräniden constatirte neuerdings Dr. C. Wehrmann[1]). Nach Gamaleïa[2]) wird das Diphtherietoxin durch Pepsin und Trypsin zerstört. Dagegen sagt Répin[3]), dass keines von diesen Verdauungsfermenten eine zerstörende Wirkung auf das Abrin, Diphtherietoxin oder das Cobragift ausübt. Wie man sieht, sind in der Literatur Beobachtungen vorhanden, welche auf die toxinzerstörende Wirkung der in das Verdauungsrohr ergossenen Secrete hindeuten; andere, die ihnen widersprechen. Eine eingehende Untersuchung hierüber fehlt. Dass es nicht die Säure des Magensaftes allein ist, die giftzerstörend wirkt, geht schon daraus hervor, dass die Toxine auch vom Rectum aus, dessen Schleimhaut und meistens auch der Inhalt alkalisch reagiren, unwirksam sind. In der oben citirten Mittheilung theilt Ransom mit, dass im hygienischen Institute in Marburg im vorigen Jahre einige Versuche angestellt wurden, um zu erfahren, ob vielleicht in der Magen- oder Darmwand eine Substanz vorhanden ist, welche giftbindende Eigenschaften besitzt, doch fielen diese Versuche negativ aus.

Diese merkwürdige Thatsache beschäftigte auch uns schon seit längerer Zeit. Gestützt auf die in unserem Laboratorium gemachte Beobachtung, wonach in Folge der Arbeit der Verdauungsdrüsen reichlich Ammoniak gebildet wird, das dann mit dem Pfortaderblute der Leber zugeführt und in diesem Organe in den ungiftigen Harnstoff umgewandelt wird, haben wir, zunächst zur eigenen Orientirung, Kaninchen in die Aeste der Pfortader Diphtherietoxin in wechselnden Dosen injicirt. Derartige Versuche sind schon früher von Charrin und Cassin[4]), Courmont und Doyon, Teissier und Guinard[5]), und zwar mit unbestimmtem Resultate, angestellt worden. Indessen kam Lapicque[5]) schon im folgenden Jahre bei Wiederholung der Versuche von Teissier und Guinard zu dem Ergebniss, dass der Leber eine giftzerstörende Wirkung nicht zugesprochen werden kann. Die minimale tödtliche Dose, für Kaninchen von 1.5 bis 2 kg des von uns benutzten Diphtherietoxins war = 0.2 g bei subcutaner Injection. Nach Injectionen von 0.2 bis 0.4 g in die Vena mesenterica starben die Kaninchen in 30 bis 50 Stunden, ziemlich zu gleicher Zeit, wie nach der Injection der gleichen Dosen in die Jugularvene. Die Injectionen wurden streng aseptisch ausgeführt und wie die Section zeigte, starben die Thiere nie an Peritonitis, hingegen wurden constant die Nebennieren stark geröthet und die Leber sehr vergrössert, gelb und brüchig gefunden. Oefters war auch ein pleuritisches Exsudat

[1]) Ann. Pasteur. **11**, 810.
[2]) Compt. rend. soc. biol. 1892, p. 153.
[3]) Ann. Pasteur. **9**, 523.
[4]) Maly's Jahresber. **25**, 280.
[5]) Ebenda **27**, 866 und 863.

vorhanden. Unsere Resultate stimmen daher mit denen von Teissier und Guinard überein und in Anbetracht der Thatsache, dass selbst 100- und 1000fach tödtliche Dosen des Diphtherietoxins vom Verdauungstractus aus unwirksam sind, kann von einer Entgiftung dieses Toxins durch die Leber nicht die Rede sein. Es ist klar, dass die Entgiftung der Toxine in der Wandung resp. in dem Lumen des Verdauungsrohres stattfinden muss. Dafür sprechen die Versuche von Charrin und Cassin [1]), dass, wenn man vor der Injection die Schleimhaut des Ileum lädirt (durch Abkratzen, Erhitzen auf 70°, durch Tannin oder Jod), so wirkt das Toxin giftig, auch vom Darme aus, vielleicht nur deshalb, weil nach jeder Läsion des Darmes die Secretion der Verdauungssäfte reflectorisch sistirt wird; auch verschwindet das zwischen zwei Ligaturen eingeschlossene Gift aus dem Darmcanal. Die Erklärung, welche Ransom für die Unschädlichkeit des Tetanotoxins vom intacten Magendarmcanal aus giebt, nämlich dass das Gift darin nicht zerstört wird, sondern unverändert durch den ganzen Canal fliesst und per anum ausgeschieden wird, war von vornherein höchst unwahrscheinlich und haben wir bei Wiederholung seiner Versuche gerade das gegentheilige Resultat erhalten. Ransom injicirte Meerschweinchen per os 10 ccm einer 5 proc. Tetanusgiftlösung, welche einer 300000 fachen tödtlichen, minimalen Giftdosis entsprach. Die nach 2 resp. 12 Stunden hierauf entleerte Flüssigkeit, die ausser mehreren festen Kothstückchen auch Harn enthielt, wurde verrieben, gemessen und ein aliquoter Theil Mäusen subcutan injicirt, welche darauf an Tetanus zu Grunde gingen. Aus seinen Bestimmungen schliesst Ransom, dass etwa $^3/_5$ der eingeführten Giftmenge, da der Harn kein Gift enthielt, mit dem Kothe entleert wurden. Wir haben noch vor dem Erscheinen der Arbeit von Ransom ähnliche Versuche mit dem Diphtherietoxin an Kaninchen angestellt, allerdings mit viel kleineren Giftdosen, was zur Entscheidung der Frage, ob die Toxine im Darme zurückgehalten und verändert werden, auch viel zweckmässiger war. Wir injicirten 20 ccm des Toxins, dessen minimale tödtliche Dose 0.2 ccm war, Kaninchen in den Magen. Sie erhielten also die 100 fache tödtliche Dose, dabei blieben sie ganz gesund und in dem entleerten festen Kothe und Harne war keine Spur von Diphtherietoxin zu finden. Beispielsweise führen wir folgende Versuche an. Ein Kaninchen, 1075 g schwer, erhält, nachdem ihm vorher die Blase mit Katheter entleert wurde, 20 ccm des Toxins in den Magen. Das Thier ist ganz munter und frisst gleich darauf sein Futter. Sechs Stunden später wird ihm per Katheter der Harn (45 ccm) wieder entnommen und davon 1.5 ccm einem Meerschweinchen von 220 g subcutan injicirt. Das Meerschweinchen bleibt vollkommen gesund. Der in den ersten 24 Stunden vom Kaninchen gelassene feste Koth (16 g) wurde mit dem doppelten Volumen H_2O verrieben, durch Tuch filtrirt und 1.5 ccm des Filtrates einem Meerschweinchen (368 g schwer) subcutan [illegible] Das Meerschweinchen hatte am nächsten Tage an der Injectionsstelle ein [illegible] schmerzhaftes Infiltrat und starb nach 60 Stunden. Die Sectio[illegible] Diphtherie charakteristische Veränderung, wie Röthung der Ne[illegible] der Leber oder pleuritisches Exsudat. Dagegen war die Milz [illegible]

[1]) Maly's Jahresber. **25**, 280.

an der Injectionsstelle ein stark übelriechender, nekrotischer Zerfall des Gewebes. Diese Versuchsanordnung hatte also den Uebelstand, dass das Filtrat grosse Mengen der Kothbacterien enthielt und die injicirte Flüssigkeit Infection mit anderen Bacterien zur Folge hatte. Wir haben daher, bei Wiederholung dieser Versuche, den mit H_2O verriebenen Koth nicht direct den Controlthieren unter die Haut injicirt, sondern, nachdem der Koth mit dem 10fachen Gewicht Wasser verrieben wurde, die erhaltene Emulsion durch Chamberlandkerzen filtrirt. Meerschweinchen, die ganz grosse Dosen dieser Filtrate (5 bis 10 ccm, dem 6. bis 10. Theil des innerhalb der nächsten 6 bis 24 Stunden gelassenen Kothes entsprechend) subcutan erhielten, blieben stets gesund und ohne jedes Infiltrat an der Injectionsstelle. Man konnte den Einwand machen, dass das Diphtherietoxin in einer Verbindung mit einem Kothbestandtheil entleert werde, die durch die Chamberlandfilter nicht passire. Wir haben aber auch den Koth mit etwas chloroformhaltigem Wasser verrieben, hierauf durch Gaze filtrirt und Meerschweinchen, die solche Filtrate subcutan erhielten, blieben ebenfalls gesund. Beispielsweise erhielt ein Kaninchen, 1025 g schwer, nachdem ihm vorher die Blase entleert wurde, 20 ccm der 100fach tödtlichen Dose entsprechend Diphtherietoxin in den Magen. Der in den nächsten 16 Stunden hierauf gelassene feste Koth = 2.5 g wurde mit dem doppelten Gewichte Chloroformwasser verrieben und davon einem Meerschweinchen (530 g schwer) 3 ccm subcutan gegeben. Das Meerschweinchen blieb gesund und nur an der Injectionsstelle war eine erbsengrosse Verhärtung bemerkbar. Der in den nächsten 24 Stunden dem Kaninchen entnommene Harn (52 ccm) enthielt ebenfalls kein Toxin, denn ein Meerschweinchen, das 5 ccm davon subcutan erhielt, blieb völlig gesund. Wir erachten es als erwiesen, dass vom Kaninchen eine 100fach tödtliche Diphtherietoxindose im Darmrohr völlig zurückgehalten und entgiftet wird. Nach dem Erscheinen der Arbeit von Ransom konnten wir uns das gegentheilige Resultat mit dem Tetanotoxin nur dadurch erklären, dass die von ihm injicirte tödtliche Giftdose unvergleichlich grösser war (300000fach), was eine Reizung der Darmschleimhaut und Durchfall zur Folge hatte, wodurch sich auf eine einfache Weise der Uebergang des injicirten Toxins in die Fäces erklären liess. Wir wiederholten jedoch den Versuch Ransom's und zwar mit folgendem Ergebniss:

Ein Meerschweinchen, 610 g schwer, erhält in den Magen 10 ccm einer Tetanustoxinlösung, wovon 0.0001 g für Meerschweinchen von 300 g Gewicht tödtlich sind, also die 100000fach tödtliche Dose. Das Thier verbleibt in einem Käfig, dessen Boden aus einem dichten Drahtnetz besteht, wodurch der feste Koth zurückgehalten wird, der Harn aber in ein darunter stehendes Glasgefäss abfliesst. Von dem in den ersten 24 Stunden gelassenen Harn = 30 ccm erhält ein Meerschweinchen, 247 g schwer, 1.5 ccm subcutan und bleibt gesund. Ebenso ungiftig ist der Harn von den folgenden 24 Stunden = 40 ccm.

Der in den ersten sieben Stunden nach der Injection gelassene Koth, der nur aus festen Stückchen bestand, = 2.5 g, wird mit 25 g H_2O zerrieben und die Flüssigkeit durch Chamberlandkerze filtrirt. Von dem Filtrate erhält ein Meerschweinchen 5 ccm unter die Haut injicirt und bleibt gesund. Die in den folgenden 17 Stunden gelassenen Excremente, auch nur aus festen Stückchen bestehend, werden

ebenso behandelt. Das Meerschweinchen, das 5 ccm des Filtrats erhielt, blieb gesund. Die Excremente vom zweiten Tage, = 4.3 g, sind fest. Sie wurden mit dem 10fachen Gewicht H_2O verrieben, durch Porcellankerze filtrirt und das Filtrat, einem Meerschweinchen injicirt, war wie das vom ersten Tage nicht toxisch. Hingegen starb eine Maus, welche 0.1 ccm der nicht filtrirten Kothemulsion subcutan erhielt, am vierten Tage, jedoch nicht unter Erscheinungen des Tetanus. Ein kleines Kaninchen, 915 g schwer, erhält 20 ccm von der gleichen Tetanotoxinlösung. Die in den nächsten drei Tagen gelassenen Excremente und Harne werden gesondert gesammelt. Der Harn enthielt nie Toxin. Die täglich gesammelten Excremente, nur aus festen Stücken bestehend, mit dem 10fachen Gewicht H_2O verrieben und durch Porcellankerzen filtrirt, gaben stets ungiftige Filtrate. Wir betrachten es als sicher, dass in diesen beiden Versuchen irgendwie nennenswerthe Mengen des Toxins nicht in den Koth übergingen. Aus der Beschreibung Ransom's ist nicht verständlich, ob seine Versuchsthiere Durchfall hatten oder nicht, auch injicirte er eine 3fach stärkere Giftmenge. Ganz unschädlich sind übrigens die Injectionen grosser Giftdosen in den Magen nicht immer. Das Kaninchen, das nur die 100fach tödtliche Diphtherietoxinmenge erhielt, magerte in der nächsten Woche ab, hatte am zweiten Tage Eiweiss im Harne und die Albuminurie hielt etwa zehn Tage an, wobei der Harn sauer wurde. Erst von der dritten Woche ab begann es wieder an Gewicht zuzunehmen und erholte sich dann vollständig. Ebenso war es mit dem Kaninchen, das 20 ccm des Tetanotoxins erhielt. Das Thier war am dritten bis sechsten Tage entschieden krank. Sein Harn wurde sauer und eiweisshaltig. Innerhalb sechs Tagen verlor das 915 g schwere Thier 115 g an Gewicht. Erst am Ende der zweiten Woche verschwand das Eiweiss aus dem Harne, das Kaninchen nahm an Gewicht zu und genas allmählich. Wahrscheinlich verursachen die Verdauungsenzyme nur eine kleine Veränderung im Molekül des Toxins, ähnlich wie sie die Eiweissstoffe in Albumosen verwandeln. Die aus den Toxinen entstandenen Producte, die man Toxosen oder Toxoide nennen könnte, werden resorbirt, verhalten sich aber im Körper nicht völlig indifferent. Die Erkrankung der Thiere kann aber auch andere Ursachen haben; denn uns sind Meerschweinchen, welche die 600fache tödtliche Diphtherietoxindose in den Magen erhielten, von Anfang an, bei zweimonatlicher Beobachtungsdauer, völlig gesund geblieben.

Wenn in dem Magendarmcanal die Toxine entgiftet werden, so war das nächstliegende, die Schleimhaut des Verdauungscanals auf seine eventuellen antitoxischen Eigenschaften zu prüfen. Die zarte Mucosa des Kaninchen- und Meerschweinchendarmes ist schwer von der Muscularis abzupräpariren. Wir haben daher von gesunden eben getödteten Kaninchen und Meerschweinchen den Magen, den Dünndarm und den Dickdarm, jedes für sich herauspräparirt, mit physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen, mit ausgeglühtem Sand und dem doppelten Gewicht 0.6 proc. NaCl-Lösung fein zerrieben und unter Zusatz von Chloroform nach dem Filtriren durch Leintuch mit abgemessenen Mengen der Toxinlösung vermischt. Diese Emulsionen wurden entweder sofort oder nach 3- bis 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur Meerschweinchen subcutan injicirt. Solche Emulsionen sind nie ganz steril und haben auch ohne Toxinzusatz bei Meerschweinchen Infiltrate und

selbst Infectionen hervorgerufen. Wir haben es daher vorgezogen, die Emulsionen statt mit dem doppelten mit 5- und 10fachem Gewichte 0.6 proc. NaCl-Lösung zu bereiten und sie durch Chamberlandkerzen zu filtriren. Die sterilen Filtrate wurden dann mit bestimmten Mengen des Toxins vermischt. Das Ergebniss dieser Versuche war folgendes: Bei Anwendung des Dünndarms von Kaninchen (sieben Fälle) variirte die zugesetzte Menge des Darms, auf frischen Darm bezogen, zwischen 0.1 bis 0.3 g für die 5 fach tödtliche Giftdose. Von den damit injicirten Meerschweinchen blieben sechs gesund, eins starb an Diphtherie. Von Meerschweinchendarm (acht Fälle) — alles ceteris paribus — blieben nur zwei gesund, sechs starben an Diphtherie. Vom Dickdarm des Kaninchens (drei Fälle); bei 5 facher Giftdosis und 0.2 bis 0.4 g frischen Darms waren zwei todt, eins blieb am Leben. Von Meerschweinchendickdarm (vier Fälle) — ceteris paribus — starben drei an Diphtherie, eins blieb gesund. Vom Kaninchenmagen (drei Fälle) — 0.2 g des frischen Magens auf die 5 fach tödtliche Dosis — sind zwei Meerschweinchen an Diphtherie gestorben, eins blieb am Leben. Von Meerschweinchenmagen (sechs Fälle) und 0.2 bis 0.4 g des frischen Magens auf die 5 fache Giftdose sind fünf an Diphtherie gestorben, und nur eins blieb gesund.

Danach haben sowohl Magen wie Dünndarm und Dickdarm in vitro auf das Diphtherietoxin eine allerdings nicht constante, aber deutlich entgiftende Wirkung. Am wirksamsten erwies sich der Dünndarm, am wenigsten der Magen. Im Allgemeinen waren die von Kaninchen bereiteten Filtrate stärker als die von Meerschweinchen. Wir haben uns übrigens durch directe Injectionen grösserer Mengen — 50 fach tödtlicher Giftdosis — von Diphtherietoxin in den Dünndarm lebender Kaninchen überzeugt, dass die Thiere, ähnlich wie vom Magen oder vom Rectum aus, die injicirte Giftmenge ohne jeden Schaden vertragen. — Die Inconstanz in der Wirkung hängt allem Anscheine nach von der mehr oder weniger vollkommenen Entfernung der entgiftenden Substanz beim Waschen der Schleimhaut ab. Ein weiteres, wie wir gesehen haben, wichtiges Moment ist die Zeitdauer. Bleibt das Gemisch auch nur mehrere Stunden in Berührung, so ist die Neutralisation des Giftes vollkommener als bei sofortiger Injection des Gemisches. Wir haben die Gemische nur bei Zimmertemperatur stehen lassen. Weiter unten werden wir zeigen, welch einen grossen Unterschied hier die ambiante und die Bruttemperatur ausmacht.

Unsere nächste Aufgabe war, zu ermitteln, welche von den in der Darmwand befindlichen Substanzen vernichtend auf das Diphtherietoxin einwirkt. Anlässlich unserer Untersuchungen über die Rinderpest fanden wir, dass Mucinlösung, aus der Submaxillardrüse vom Rind bereitet, rothe Blutkörperchen auflöst — Mucin könnte möglicherweise auch auf die Toxine zerstörend einwirken. Die mit sterilen Mucinlösungen und Diphtherietoxin in verschiedenen Verhältnissen angestellten Versuche ergaben uns vorwiegend negative Resultate. In ganz vereinzelten Fällen war eine schwache antitoxische Wirkung bemerkbar. Uebrigens, Mucinlösungen durch wiederholtes Auflösen in 0.15 proc. HCl und Fällen mit H_2O gereinigt und durch Chamberlandkerzen filtrirt, rufen bei Meerschweinchen, subcutan injicirt, Infiltrate hervor. Die Thiere magern ab und erholen sich nur langsam. Bemerken wollen wir noch, dass durch Chamberlandkerzen filtrirte Extracte aus anderen Organen,

wie Leber, Lunge, Gehirn und Nebennieren, auf das Diphtherietoxin ohne jede Wirkung sind. Sterile Filtrate aus den Nebennieren von Ochsen hatten nach subcutaner Injection sehr starke Infiltrate und nekrotischen Zerfall des Gewebes zur Folge. Submaxillarspeichel vom Hund — 1 ccm mit 0.15 ccm Diphtherietoxin der 5 fach tödtlichen Dose entsprechend — nach 17 stündigem Stehen des Gemisches bei Zimmertemperatur einem Meerschweinchen, 300 g schwer, subcutan eingespritzt, war wirkungslos. Das Thier starb nach 36 Stunden an Diphtherie. Parotisspeichel vom Hunde, ceteris paribus, hatte ebenfalls keine Wirkung. Das Meerschweinchen, 257 g schwer, starb an Diphtherie 30 Stunden nach der Injection. Auch nach längerem Stehen des Diphtherie- oder Tetanustoxins mit Speichel bei der Bruttemperatur bis 20 Stunden waren diese Toxine nicht entgiftet.

Die entgiftende Wirkung in der Darmwand müsste von einer anderen darin befindlichen Substanz herrühren. Wir wissen nun, dass, ähnlich wie die innere Fläche des Magens vom Magensafte benetzt wird, so auch die Schleimhaut des Darmes ihrer ganzen Länge nach und in allen ihren Falten mit dem pankreatischen Safte bedeckt ist. In der physiologisch-chemischen Literatur sind wiederholt Angaben von Autoren verzeichnet, die mit abgeschabter Darmschleimhaut Verdauungsversuche anstellten und Verdauung der Eiweissstoffe beobachteten. Sie schrieben dem Darmsafte diese eiweissverdauende Wirkung zu. Genauere Untersuchungsmethoden ergaben aber, dass diese Wirkung nicht vom Darmsaft, sondern von dem stets in der Darmschleimhaut vorhandenen Trypsin des pankreatischen Saftes herrührt. Wir hatten demnach die Einwirkung des pankreatischen Saftes auf die Toxine zu prüfen. Bevor wir jedoch das Ergebniss dieser Versuche mittheilen, erachten wir es für nöthig, einige neu ermittelte Thatsachen über dieses Secret vorauszuschicken.

Die Arbeiten von J. Pawlow[1]) und seiner Mitarbeiter haben unsere Kenntnisse nicht nur über den Verdauungsprocess überhaupt, sondern auch speciell über die Gewinnung, Innervation, Bedingungen der Absonderung, Eigenschaften und Zusammensetzung des pankreatischen Saftes wesentlich befördert. Pawlow ist es zuerst gelungen, bei seinen oesophago- und gastrotomirten Hunden mittelst der „Scheinfütterung" einen wirklich reinen Magensaft in jeder beliebigen Menge zu gewinnen. Ebenso hat er auch eine wesentliche Verbesserung zur Gewinnung des pankreatischen Saftes eingeführt, indem er aus der Wand des Zwölffingerdarms ein rhombisches Stück mit der Mündung des Pankreasganges herausschneidet, den Darm ohne wesentliche Verengerung seines Lumens vernäht und das ausgeschnittene Stück Darmwand mit der Schleimhaut nach aussen in die Oeffnung der Bauchwand einnäht. Die so operirten Hunde, zweckmässig behandelt, bleiben Jahre lang am Leben und kann zu jeder beliebigen Zeit und unter verschiedenen Ernährungsverhältnissen der Pankreassaft von ihnen erhalten werden. Aus den Arbeiten Pawlow's und seiner Mitarbeiter wissen wir ferner, dass nicht nur die quantitative, sondern auch die qualitative Zusammensetzung des vom Pankreas abgesonderten Secretes der Nahrung angepasst wird. An Eiweiss reiche Nahrung (Fleisch) hat

[1]) Eine deutsche Uebersetzung seiner „Vorlesungen über Arbeit der Verdauungsdrüsen" von Dr. A. Walther ist kürzlich im Verlage von J. F. Bergmann in Wiesbaden erschienen.

zur Folge die Secretion eines an Trypsin reichen Saftes. Bei Brotfütterung ist der secernirte Saft bedeutend reicher an stärkelösendem Enzym. Nach Fütterung mit Milch enthält der Saft sowohl das Eiweiss- wie das fettspaltende Enzym in relativ grösster Menge. Alle die drei genannten Sorten des Saftes haben das Gemeinschaftliche, dass sie reich an Enzymen und organischen Stoffen sind. Ganz verschieden davon ist der Saft, der nach dem Eingiessen von Säuren in das Duodenum oder nach Entleerung stark sauren Speisebreies durch den Pylorus vom Pankreas abgesondert wird. Solcher Saft ist dünnflüssig, enthält sehr geringe Mengen der Enzyme und organischer Substanzen und besteht vorwiegend aus unorganischen Salzen, so dass er zwei- bis dreimal mehr unorganische als organische Bestandtheile enthält. Der Umstand, dass unsere Vorgänger mit künstlich hergestellten Präparaten der Verdauungsfermente experimentirten, ist die Ursache ihrer einander widersprechenden Resultate. Da wir mit reinen, sterilen und bei bestimmter Nahrung gewonnenen Secreten arbeiteten, haben wir nicht allein sichere Resultate erhalten, sondern waren auch im Stande, quantitative Verhältnisse hierüber zu ermitteln.

Wir begannen unsere Versuche mit Diphtherietoxin und pankreatischem Safte vom Hunde und zwar auch an Hunden. Das Resultat war unzweideutig. Es ist der pankreatische Saft, der im Darme das Diphtherietoxin vernichtet.

Zu den bisherigen Versuchen benutzten wir stets den Saft nach Milchfütterung. Er enthielt also vornehmlich das Trypsin und das fettspaltende Enzym. Da der aus der Fistel gesammelte Saft nie bacterienfrei ist, so musste er zuerst durch Chamberlandkerzen filtrirt werden, wodurch ein Theil der Enzyme zurückgehalten wird. So war beispielsweise von dem hier von uns benutzten unfiltrirten Safte die verdaute Eiweissmenge nach Mette bestimmt = 6 mm, in filtrirtem Safte nur = 4 mm. Ein Drittel des Enzyms ist also zurückgehalten worden. Wie bekannt, sind Hunde gegen Diphtherietoxin besonders empfindlich. In unseren Versuchen war die für Kaninchen ermittelte tödtliche Minimaldose auch für Hunde von etwa 10 kg tödtlich.

Ein gesunder Hund, 8.8 kg schwer, erhält 0.2 g des Diphtherietoxins subcutan; am nächsten Tage an der Injectionsstelle Infiltrat, das am vierten Tage zu einer offenen, faustgrossen, nekrotisirenden Wunde wird. Der Hund frisst nicht, und nachdem er schon am fünften Tage eine Temperatur unter 35° hatte, stirbt er am sechsten Tage an Diphtherie. Zu gleicher Zeit erhält ein zweiter Hund, 5.6 kg schwer, 0.4 g des gleichen Diphtherietoxins, dem aber 1 g Pankreassaft zugesetzt wurde. Gleich nach dem Vermischen wird die Flüssigkeit dem Hunde subcutan injicirt. Das Thier bleibt vollkommen gesund, hat kein Infiltrat und nimmt schon am nächsten Tage an Gewicht zu.

Ein zweiter Versuch ergab folgendes Resultat. Ein gesunder Hund, 11.3 kg schwer, erhält 0.5 g des gleichen Diphtherietoxins. Am nächsten Tage ist das Thier traurig und hat an der Injectionsstelle ein Infiltrat. Am dritten Tage verschlimmert sich der Zustand und am vierten Tage Mittags 12 Uhr stirbt der Hund. Die sofort vorgenommene Section ergiebt an der Injectionsstelle ein sulzigblutiges Infiltrat. In der Pleurahöhle kein Exsudat. Leber stellenweise gelb, fettig degenerirt. Nebennieren tiefroth. Milz nicht vergrössert. Gleichzeitig bekommt ein zweiter Hund, 12 kg schwer, 1 ccm Diphtherietoxin mit 2 ccm Pankreassaft vermischt. Die Flüssig-

keit wurde auch hier gleich nach dem Vermischen injicirt. Das Thier hatte kein Infiltrat, erkrankte gar nicht und blieb gesund.

Aehnliche, ja überraschend günstige Resultate, erhielten wir mit dem Pankreassafte bei Kaninchen und Meerschweinchen. Magensaft erwies sich als viel weniger wirksam. Bevor wir diese Versuche beschreiben, ist es aber nöthig, einiges über die Wirkung dieser Säfte selbst, da sie bei subcutaner Injection nicht indifferent sind, vorauszuschicken.

In Folge der Publicationen von Fermi[1]), wonach die Enzyme, in Widerspruch zu den früheren Angaben, subcutan injicirt, nicht toxisch wirken, hat Herr Dr. Tschepurkowski[2]) in unserem Laboratorium diese Streitfrage einer erneuten experimentellen Untersuchung unterworfen. Wir führen nur die bezüglich des Magen- und des Pankreassaftes uns hier interessirenden Resultate an. Eine ausführliche Beschreibung seiner Versuche wird Herr Dr. Tschepurkowski demnächst veröffentlichen.

Magensaft von Hunden nach der Scheinfütterung mit Fleisch erhalten und durch Chamberlandkerzen filtrirt, ruft bei Meerschweinchen von 250 bis 500 g in Dosen von 2.5 bis 5.0 ccm, subcutan injicirt, keine oder unerhebliche Temperatursteigerung und Infiltrate hervor. Das Infiltrat kann resorbirt werden, oder es findet bei grösseren Dosen Erweichung und Auflösung des Gewebes statt, die unter Schorfbildung verheilen. Das Gleiche gilt vom sterilen Pankreassaft. Steriler Pankreassaft dagegen, Kaninchen intravenös injicirt, verursacht, öfters schon in Dosen von 1.5 ccm, in wenigen Minuten bis einigen Stunden den Tod des Thieres durch Fibringerinnung, Verstopfung der Blutgefässe, Stauung des venösen Blutes und dadurch bedingter geringer Füllung des linken Herzens und Sinken des Blutdruckes. Der Grund hiervon ist, dass, nach unseren Versuchen, der Pankreassaft von Hunden ausser den Verdauungsenzymen auch das Fibrinferment in wechselnden Mengen enthält.

Bei Injectionen der Gemische von Toxinen mit Magen- resp. Pankreassaft hatten wir auch die Wirkung dieser Secrete zu berücksichtigen. Im Allgemeinen haben wir daher, nach Ermittelung der neutralisirenden Wirkung, nicht die Enzyme, sondern die Giftdosen erhöht. Wir begannen unsere Versuche an Meerschweinchen mit der 5 fach tödtlichen Dose des Diphtherietoxins = 0.15 ccm, dem wir 0.3 bis 1.0 ccm Pankreassaft zugesetzt haben. Das Gemisch blieb 16 bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurde dann den Thieren subcutan injicirt. Da die Thiere sämmtlich über einen Monat am Leben blieben und nur in den ersten drei bis fünf Tagen Infiltrate und Gewichtsabnahme zeigten, so erhöhten wir in den folgenden Versuchen die Toxindosen und verminderten die Menge des zugesetzten Saftes. Aber selbst bei der 6.6 fachen tödtlichen Toxindose und nur 0.05 ccm Pankreassaft blieben die Thiere am Leben. Sie vertrugen es ohne Schaden, als wir 0.3 g des Toxins (10 fach tödtliche Dose) mit 0.5 g Pankreassaft vermischten und das Gemisch sofort den Thieren injicirten. Von 14 Meerschweinchen, die solche Gemische in den

[1]) Maly's Jahresber. **24**, 723 und **27**, 828.

[2]) Siehe folgenden Artikel.

verschiedenen oben angegebenen Verhältnissen erhielten, ist uns kein einziges bei einer Beobachtungsdauer von mehr als einem Monat gestorben.

Aehnliche Resultate — bei Dosen von 2.0 g Diphtherietoxin (10fach tödtliche Dosis) auf 2 bis 0.5 g Pankreassaft — erhielten wir auch mit Kaninchen. Fünf so behandelte Thiere blieben alle am Leben, ein Kaninchen dagegen, das auf 2 g Diphtherietoxin nur 0.75 g Pankreassaft — das Gemisch wurde sofort injicirt — erhielt, starb am zweiten Tage an Diphtherievergiftung.

Da die Wirkung der Pankreasenzyme bei Bruttemperatur bedeutend energischer ist, so haben wir in einer zweiten Versuchsreihe viel kleinere Mengen von Pankreassaft, nämlich 0.01 ccm, mit steigenden Toxindosen von 0.2 bis 3.0 g 16 bis 18 Stunden bei 38° stehen gelassen und sodann das Gemisch Meerschweinchen von 250 bis 300 g Gewicht subcutan injicirt. Von den sechs Versuchsthieren erhielten:

	Gewicht des Meerschweinchens	Gewichtsverlust bis zur Erholung des Thieres	Menge des injicirten Toxins	Menge des injicirten Pankreassaftes
Nr. 1	267 g	— 22 g	0.2 g	0.01 g
„ 2	282 „	— 12 „	0.3 „	0.01 „
„ 3	302 „	— 17 „	0.6 „	0.01 „
„ 4	279 „	— 19 „	1.2 „	0.01 „
„ 5	274 „	— 17 „	2.0 „	0.01 „
„ 6	246 „	— 26 „	3.0 „	0.01 „

Sämmtliche Thiere hatten kaum merkbare Infiltrate, vom dritten bis vierten Tage ab nahmen sie an Gewicht zu und blieben bei einer Beobachtungsdauer von fünf Wochen gesund.

1.0 g Pankreassaft vom Hunde neutralisirt demnach die zehntausendfach tödtliche Diphtherietoxin-Dosis. Um die Wirkungsgrenze festzustellen, gingen wir noch weiter. Meerschweinchen Nr. 7, 385 g schwer, erhält ein Gemisch von 3 g Toxin mit 0.005 g Pankreassaft. Meerschweinchen Nr. 8, 387 g schwer, erhält 3 g Toxin + 0.001 g Pankreassaft. Meerschweinchen Nr. 9, 270 g schwer, erhält 3 g Toxin + 0.0005 g Pankreassaft. Alle drei Gemische standen 18 Stunden im Thermostaten vor der Injection. Das Meerschweinchen Nr. 9 starb nach 30 Stunden, Nr. 8 starb nach 48 Stunden, beide an Diphtherie. Nr. 7 mit 0.005 g Pankreassaft und 3 g Toxin (= 100 facher tödtlicher Dose) blieb am Leben, hatte an der Injectionsstelle starkes Infiltrat, erholte sich aber vollkommen.

Prof. Pawlow, der die Freundlichkeit hatte, uns den Magen- und Pankreassaft zur Verfügung zu stellen, hatte auch für unsere Zwecke bei dem Kaninchen Pankreasfistel angelegt. Bei dem ersten Thier wurde nach Einführung der Canüle durch Injection von Säure in das Duodenum die Secretion angeregt. Wir hatten also hier mit dem Säuresaft zu thun. Im Ganzen wurden innerhalb sechs Stunden 1.6 ccm Saft erhalten. Wegen der geringen Quantität wurde er nicht durch Porcellankerze filtrirt, sondern, mit Diphtherietoxin vermischt, sofort den Thieren injicirt. Ein Meerschweinchen erhielt 0.15 g des Toxins (5 fach tödtliche Dose) + 0.3 g des Kaninchensaftes. Ein zweites Meerschweinchen erhielt auf die gleiche Toxinmenge

0.5 ccm des gleichen Saftes. Beide Thiere starben nach zwei resp. drei Tagen an Diphtherie. Von einem zweiten Kaninchen wurde der Pankreassaft ohne Säure-injection gesammelt und innerhalb sechs Stunden nur 0.15 ccm erhalten. Diesem Safte wurden 0.3 ccm (10 fach tödtliche Dosis) Diphtherietoxin + ein Tropfen Chloroform zugesetzt und 18 Stunden bei 38° stehen gelassen. Ein Meerschweinchen, 307 g schwer, erhielt dieses Gemisch subcutan und blieb gesund.

Steriler Magensaft von Hunden mit Diphtherietoxin gemischt zerstört ebenfalls die giftige Wirkung des letzteren, jedoch in bedeutend geringerem Grade. Die günstigste Dose für Meerschweinchen war 0.1 g Magensaft auf die 5 fach tödtliche Toxindose nach 17 stündigem Stehen des Gemisches bei Zimmertemperatur. Sechs mit solcher Mischung behandelte Thiere blieben alle am Leben. Bei sofortiger Injection des Gemisches ist die Entgiftung nicht ganz sicher. Auch hat hier die Bruttemperatur keinen so grossen Einfluss wie bei dem Pankreassafte. Meerschweinchen, die 0.2 g des Toxins (6.6 fach tödtliche Dose) mit 0.01, 0.05 und 0.075 g Magensaft und nach 20 stündigem Stehen des Gemisches im Thermostaten dasselbe subcutan erhielten, starben alle in ein bis zwei Tagen an Diphtherie. Danach entgiftet 1 g des Magensaftes nicht mehr als wie etwa die 50 fach tödtliche Dose des Diphtherietoxins. Schon nach Abschluss dieser Versuche ist uns eine Mittheilung von A. Charrin in dem ersten diesjährigen Hefte des Archives de physiol. normal et pathol. 1898, T. X, p. 67 über die Einwirkung des Pepsins auf das Diphtherietoxin zugekommen. Charrin experimentirte mit zwei käuflichen Pepsinpräparaten. Von acht Meerschweinchen, denen tödtliche Mengen von Diphtherietoxin, die 48 Stunden bei Bruttemperatur mit Pepsin gestanden hatten, injicirt wurden, lebten sechs mehr als einen Monat, eins starb nach sieben Tagen, eins am Ende der zweiten Woche. Dass weder der Säure des Magen- noch dem Alkali des Pankreassaftes eine wesentliche Rolle bei der Entgiftung zukommt, davon haben wir uns überzeugt, indem wir einerseits Magensaft mit Soda bis zu ganz schwach sauerer Reaction, andererseits Pankreassaft mit Milchsäure oder Magensaft neutralisirten. In beiden Fällen war die Wirkung die gleiche, wie in nicht neutralisirten Säften. Wässerige Extracte der pankreatischen Drüse von Rind und Meerschweinchen wirkten ebenfalls entgiftend. Die Drüsen wurden fein zerhackt, mit 5 fachem Gewichte Wasser versetzt und nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur die wässerigen Auszüge durch Porcellankerzen filtrirt. Abgemessene Mengen der Filtrate wurden mit bestimmten Mengen des Diphtherietoxins 17 Stunden im Thermostaten stehen gelassen und hierauf Meerschweinchen subcutan injicirt. 0.2 g des Toxins (6.6 fache tödtliche Dose) wurden durch 0.2 bis 0.3 g des Filtrates (0.04 bis 0.06 der Drüsensubstanz entsprechend) ganz entgiftet, da die Meerschweinchen keine Infiltrate hatten und gesund blieben.

Es war nun hochinteressant, zu untersuchen, wie sich der Pankreassaft, dessen stark entgiftende Wirkung dem Diphtherietoxin gegenüber uns die Unwirksamkeit dieses Giftes vom Magendarmcanal aus hinreichend erklärt, gegen das Tetanotoxin verhalten werde. Wir waren Anfangs ganz enttäuscht, als die Versuche mit Pankreas bei Zimmer- oder Bruttemperatur nur eine sehr geringe schwächende Wirkung dieses Saftes dem Tetanotoxin gegenüber zeigten. Wir experimentirten mit zwei Tetanotoxinpräparaten: einem älteren, ganz schwachen, das Meerschweinchen von 300 g

Gewicht erst in Dosen von 0.01 ccm nach drei Tagen tödtete, und einem frisch bereiteten, stark giftigen Präparate, dessen minimale tödtliche Dose zu 0.0001 ccm ermittelt wurde. Von 18 Meerschweinchen, denen wir Gemische des Pankreassaftes mit einem der beiden Toxine in den verschiedensten Verhältnissen und nachdem sie bei Zimmer- oder Bruttemperatur gestanden, subcutan injicirt haben, starben 14 an Tetanus und vier blieben am Leben. Von diesen letzteren erhielten alle 1 g des Saftes auf die 10- bis 30fache tödtliche Dose.

Magensaft erwies sich gegen das Tetanotoxin bedeutend wirksamer. Von 14 Meerschweinchen, die in wechselnden Verhältnissen Gemische von Magensaft mit Tetanotoxin erhalten haben, blieben sieben am Leben, unter diesen drei, bei welchen 0.1 bis 0.2 g des Magensaftes die tausendfach tödtliche Dosis des starken Giftes nach 20stündiger Einwirkung bei Bruttemperatur neutralisirte. Dieser Befund erklärt uns aber nicht die Unschädlichkeit des Tetanotoxins nach Injectionen in das Rectum. Die interessante Beobachtung von Th. R. Fraser über die Entgiftung des Schlangengiftes durch die Galle, sowie die Kenntniss der bis jetzt nicht genügend gewürdigten Bedeutung der Galle bei der Darmverdauung, führte uns bald zur Auffindung der Mittel, deren sich der Organismus zur Entgiftung selbst ganz kolossaler Mengen des Tetanotoxins bedient. Schon vor 12 Jahren wurde im Laboratorium des Einen von uns in Bern festgestellt, dass die Galle ein nicht zu unterschätzender Factor bei der Spaltung der Fette durch das Pankreasferment im Darmrohr ist[1]. Vier Jahre später zeigten Martin Sidney und Williams Dawson[2]), dass auch die eiweissverdauende und amylolytische Wirkung der Pankreasfermente durch die Gegenwart der gallensauren Salze entschieden gefördert wird, und neuerdings hat Dr. Bruno im Laboratorium des Prof. Pawlow diese Wirkung genauer studirt und bestätigt gefunden. Dass die Galle nach subcutaner oder intravenöser Injection nicht indifferent ist, ist schon seit lange bekannt[3]). Nach subcutaner Injection von 2.5 ccm steriler, durch Chamberlandkerze filtrirter Ochsengalle starb in einem Versuche von uns ein Meerschweinchen von 273 g Gewicht innerhalb 20 Stunden. Bei den weiter unten zu beschreibenden Versuchen blieben Meerschweinchen, welche die 10000fach tödtliche Dose von Tetanotoxin mit nur 0.06 g Pankreassaft und 0.02 g Galle subcutan erhielten, am Leben, während Meerschweinchen, die nur die tausendfach tödtliche Dose mit 0.06 g Pankreassaft und 0.5 g Galle bekamen, nach ein bis zwei Tagen, allerdings nicht unter Erscheinungen des Tetanus, zu Grunde gingen. Galle allein wirkt entschieden auf das Tetanotoxin entgiftend, nur kommt es auf die richtige Mischung der beiden Substanzen, die Temperatur und das Alter der Versuchsthiere an. Ein Meerschweinchen, 369 g schwer, das ein Gemisch von 0.1 g Tetanotoxin (1000fach tödtliche Dose) mit 1 g Galle erhielt, starb am dritten Tage an Tetanus. Das Gemisch stand in dem Falle 17 Stunden vor der Injection bei Zimmertemperatur. Zwei anderen Meerschweinchen, 349 g resp. 303 g schwer, wurde die gleiche Toxindose mit Zusatz von 0.1 g resp. 0.5 g Galle nach 17stündiger Einwirkung im Thermostaten injicirt. Beide Thiere erkrankten am nächsten Tage an

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **20**, 367. — Nencki's Opera omnia **1**, 822.
[2]) Maly's Jahresber. **20**, 264.
[3]) Vergl. Feltz und Ritter, ref. in Maly's Jahresber. **1**, 221.

leichtem Tetanus. Sie besserten sich aber langsam, und am fünften resp. sechsten Tage verschwanden alle Krankheitserscheinungen und die Thiere blieben gesund.

Viel stärker als Pankreas und Galle allein wirkt das Gemisch der beiden Verdauungssäfte. In unseren Versuchen nahmen wir auf drei Theile Pankreassaft einen Theil Galle. Es wird Sache weiterer Versuche sein, zu ermitteln, welches relative Verhältniss dieser beiden Secrete das günstigste für die Neutralisirung des Tetanotoxins ist. Wir erhielten beispielsweise folgendes Resultat:

	Gewicht des Meerschweinchens in g	Tetanotoxin in ccm	Pankreassaft in ccm	Galle in ccm
Nr. 1	320	0.1	0.06	0.02
„ 2	367	0.5	0.08	0.02
„ 3	410	1.0	0.06	0.02

Die Gemische wurden nach 16stündigem Stehen bei Bruttemperatur den Thieren injicirt. Nr. 1 blieb völlig gesund. Nr. 2 war am zweiten Tage etwas verdächtig. Nr. 3 war am dritten Tage etwas matt, besserte sich aber schon am folgenden Tage, und alle drei Meerschweinchen blieben dauernd, bei 40tägiger Beobachtungsdauer, gesund. — Bei Wiederholung dieses Versuches erhielten wir gleiches Resultat. Selbst als ein Meerschweinchen (405 g schwer) die 15000fach tödtliche Dosis mit 0.06 g Pankreassaft und 0.02 g Galle subcutan erhielt, blieb es, trotz starken Infiltrates an der Injectionsstelle und Nekrose, am Leben und erholte sich vollkommen. Doch findet die Entgiftung nicht jedesmal statt. Sie ist offenbar von der Beschaffenheit des Pankreassaftes und der Galle, sowie der richtigen Mischung abhängig; auch widerstehen grössere Meerschweinchen besser als Thiere unter 300 g.

Danach wird durch ganz minimale Mengen, wie 0.06 g Pankreassaft und 0.02 g Galle, die schädliche Wirkung der 10000fachen Tetanotoxindose aufgehoben und wir sehen, in welch' wunderbarer Weise der thierische Organismus in seinem Magendarmcanal gegen die Toxine durch die Verdauungssäfte geschützt ist. Die Rolle der Verdauungssäfte erscheint uns hier in einem neuen Lichte. Die Mikroben sind unvermeidliche Parasiten in unserem Verdauungscanal. Sofern sie nicht durch den Magensaft vernichtet oder geschwächt werden, vermehren sie sich im Darmrohr, besonders im Dickdarm, wo sie verschiedene giftige Producte — wir erinnern nur an die früher von uns isolirten Substanzen, wie Indol, Skatol, Methylmercaptan u. s. w., namentlich aber die in Wasser leicht löslichen und diffusiblen Toxine — bilden. — Der ständigen Gefahr der Intoxication vom Darme aus ist durch die Verdauungssäfte vorgebeugt. Der Organismus des Wiederkäuers macht sich sogar den Parasitismus zum Nutzen. In seinen drei ersten Magen wird der Speisebrei mit Hülfe der Mikroben den Verdauungssäften zugänglich gemacht, aber nichts wird von hier aus resorbirt. Der Magensaft des Labmagens schränkt die Gährungen ein und lässt nichts Schädliches durch seine Wand hindurch. Im Darmrohr, wo die Auflösung des Speisebreies durch den Pankreassaft und die Galle und die Resorption vor sich geht, geschieht auch die Entgiftung der in den Magen entstandenen Producte. Wir zweifeln nicht daran, dass ähnlich, wie je nach der eingeführten Nahrung in den

hierauf secernirten Verdauungssecreten der Gehalt an Wasser, Säure, Alkali und den verschiedenen Enzymen eben dieser Nahrung angepasst wird, so auch bei Vorhandensein der Toxine im Verdauungscanal reflectorisch die betreffenden Verdauungssäfte mit einem ganz bestimmten Gehalt an Enzymen und relativen Mengen zu einander, und zwar solchen, durch welche die zweckmässigste Entgiftung des Toxins geschieht, secernirt werden.

A priori ist es nicht wahrscheinlich, dass bei der Mannigfaltigkeit der Toxine sie alle durch die Verdauungssecrete entgiftet werden. Weir-Mitchell und E. Reichert, sowie Th. Fraser, geben auch an, dass die Schlangengifte vom Magen aus toxisch wirken. Das kürzlich von Brieger und Kempner[1]) isolirte Toxin des van Ermengem'schen Bacillus botulinus (das sog. Wurstgift) wirkt offenbar toxisch vom Verdauungscanal aus. Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte erklärt uns, warum toxinbildende, pathogene Mikroben im Darminhalt gesunder Menschen und Thiere ohne Schaden für den Organismus vorkommen können. Vielleicht wird es möglich sein, durch Zusatz z. B. des Pankreassaftes oder der Galle zu den Nährsubstraten oder durch Züchtung auf diesen Säften bestimmte virulente Bacterien avirulent zu machen. Nach unseren vorläufigen Versuchen haben die Verdauungssäfte auf die Toxine eine entgiftende, aber nicht immunisirende Wirkung. Wir injicirten Meerschweinchen in die eine Seite Diphtherietoxin und gleichzeitig in die andere Seite zur Entgiftung des Toxins eine mehr als hinreichende Menge des Pankreassaftes. Die Thiere starben an Diphtherie. Ebenso unwirksam erwiesen sich der Magen- und Pankreassaft, als sie einige Stunden nach und vor der Einspritzung des Toxins injicirt wurden. Das Enzym muss offenbar direct auf das Toxin, und zwar eine gewisse Zeit lang und bei einem Temperaturoptimum einwirken. Daher war in unseren Versuchen die Entgiftung am unvollständigsten, wenn das Gemisch von Toxin und Enzym sofort den Thieren injicirt wurde. Schon vollkommener war die Entgiftung in Gemischen, die eine Zeit lang bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Am besten wirkten die Enzyme bei der Bruttemperatur und waren dann die kleinsten Dosen genügend. Höchst lehrreich und charakteristisch für die Nahrungsaufnahme vom Darme aus ist die völlige Entgiftung der Toxine, so dass beispielsweise nicht der 0.00001. Theil des in den Magen injicirten Tetanotoxins unverändert die Darmwand passirte.

So verlockend es auch ist, weitere Betrachtungen über die gegenseitigen Beziehungen der Toxine zu den Enzymen anzustellen, halten wir es doch für zweckmässiger, noch weiteres Beobachtungsmaterial hierüber zu sammeln. Untersuchungen nach dieser Richtung hin berechtigen uns zu der Hoffnung, dass wir ehestens eine präcisere und klarere Vorstellung von dem, was wir „Ferment" und „Toxin" nennen, erlangen werden.

12. April 1898.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1897, Nr. 33.

Zur Frage über die toxische Wirkung der ungeformten Fermente

von

J. Tschepurkowski.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Die Versuche wurden mit zwei natürlichen Fermentsäften, dem Pankreas- sowie dem Magensaft (vom Hunde direct erhalten), dann mit künstlich dargestellten Präparaten, wie Pepsin, Pankreatin und Fibrinferment, die zum Theil von der Firma Grübler bezogen worden waren, und endlich mit pflanzlichen Fermenten, der Diastase, dem Emulsin und Invertin angestellt. Das Emulsin bereitete Verf. selbst aus süssen und bitteren Mandeln nach der Methode von Bull; ausserdem wurde ein altes, seiner Zeit von Prof. Nencki dargestelltes Präparat, welches sich als sehr wirksam erwies, verwandt. Das Invertin erhielt Verf. von Dr. Damaskin, welcher das Präparat im Jahre 1896 im Laboratorium von Prof. Tammann dargestellt hatte. Der Magensaft wurde von nach der Methode von Prof. J. Pawlow operirten, oesophagotomirten und mit einer Magenfistel versehenen Hunden durch Scheinfütterung gewonnen. Der Pankreassaft stammte von einem oesophagotomirten Hunde, welchem auf Magen und Pankreasausführungsgang Fisteln angelegt worden waren. Der Pankreassaft wurde nach Einführung von Nahrung durch die Magenfistel gesammelt.

Alle Fermente wurden, ehe sie in Anwendung kamen, durch Chamberlandkerzen filtrirt. Kurz vor der Injection wurden sie auf ihre Sterilität und specifische Fermentwirkung geprüft. Zur Prüfung der proteolytischen Wirkung diente die Methode von Mett und zum Theil auch die von Fermi (auf Verflüssigung der Gelatine); auf amylolytische Fermentwirkung wurde mit 1 Proc. Arrowrootlösung und Reisstärkekleister, sowie mit aus löslicher Stärke hergestelltem Kleister nach der Methode von Syniewski (Berichte **30**, 2415) geprüft u. s. w.

Nach Bestimmung der specifischen Fermentwirkung wurden die Fermente Thieren theils subcutan, theils intravenös einverleibt. Die Injectionen wurden unter aseptischen und antiseptischen Cautelen ausgeführt. Zu den Versuchen dienten Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde. Vor Beginn des Versuches wurden die Thiere eine Zeit lang beobachtet, wobei ihnen zweimal täglich die Temperatur gemessen wurde.

Das Ergebniss der mit Magensaft sowie mit Pankreassaft angestellten Versuche war ein mehr oder weniger identisches.

Die Wirkung des Magensaftes bei subcutaner Application war eine dreifache.

1. Eine schwache Einwirkung war im Versuch 4, 5, 6, 8 zu vermerken: etwa drei bis vier Stunden nach der Injection Schwellung und Infiltration des subcutanen Bindegewebes an der Injectionsstelle, Veränderungen, die schon in den nächsten Tagen zurückgingen.

2. In die zweite Kategorie gehören sieben Fälle (Versuche 7, 10, 12, 13, 14, 16, 19), in welchen local an der Injectionsstelle Maceration der Haut und blutigseröse Infiltration mit Haarausfall zu constatiren waren; der weitere Verlauf war ein verschiedener: in einigen Experimenten, wie Nr. 7, 10, 12 und 13, trat gegen Abend des zweiten Tages Besserung ein; in anderen Fällen (Experiment 12, 14, 16 und 19) ging die infiltrirte Stelle in Eiterung über, es bildete sich ein circumscripter Abscess und dann eine Ulceration.

3. Die dritte Kategorie umfasst ebenfalls sieben Versuche (Nr. 9, 11, 15, 17, 18, 20 und 21), in welchen am zweiten Tage post injectionem eine starke Schwellung an der Injectionsstelle zu beobachten war; diese verschwand entweder im Laufe einiger Tage, oder die Haut wurde an der Stelle der Geschwulst immer weicher und dünner und brach schliesslich durch, wobei sich Flüssigkeit entleerte; in Fällen aber, wo dieser Process später zu Stande kam, bildete sich eine starke Eiterung des subcutanen Bindegewebes, es kam sogar zu allgemeiner Infection (20, 21) und letalem Ausgange.

Intravenöse Einspritzungen von Magensaft rufen nur kurzdauernde Allgemeinerscheinungen, die in erhöhter Temperatur zum Ausdruck kommen, hervor. Im Blute wird das Ferment schneller zerstört, als bei subcutaner Einverleibung. Von Allgemeinerscheinungen nach Injection grösserer Dosen (5 bis 10 ccm) sind Depression und Mattigkeit, Störungen der Magendarmfunction, sowie Schwankungen der Temperatur und des Körpergewichts zu nennen; namentlich bei Meerschweinchen sinkt die Temperatur sofort nach der Injection und steigt dann später je nach Intensität und Verbreitung der localen Erscheinungen. Mittlere Dosen werden sogar bei subcutaner Injection relativ gut vertragen, wofür der Umstand spricht, dass die meisten Thiere während der Versuchszeit an Gewicht zunehmen.

Die Versuche mit Pankreassaft ergaben, dass derselbe im Vergleich mit dem Magensaft weniger giftig wirkt; die doppelte Dosis Pankreassaft wirkt schwächer wie die einfache Dosis Magensaft. Bei subcutaner Einverleibung sehen die durch Pankreassaft angegriffenen Gewebstheile anders aus, als bei Injection von Magensaft. 14 Versuche erwiesen, dass bei Einwirkung von Pankreassaft das Gewebe zum Theil ein normales Aussehen beibehält, aber etwas trocken und brüchig wird, und dem Gewebe bei trockener Gangrän ähnlich sieht; nach Injection von Magensaft sieht es wie verdaut aus. Das Gewebe besitzt ausgesprochen antifermentative Wirkung, es paralysirt die Fermentwirkung. In Betreff der Allgemeinsymptome war nach subcutaner Einspritzung des Pankreassaftes nichts Besonderes zu notiren. Temperatursteigerung ist, gleich wie bei Injection des Magensaftes, nur in Folge von Complicationen, wie Infection und dergleichen, zu beobachten. Bei intravenöser Application des Pankreassaftes wurde bei verschiedenen Thieren eine viel stärkere Sterblichkeit beobachtet: von 24 Fällen gingen 10 letal aus. Durch vergleichende Versuche konnte jedoch festgestellt werden, dass dieses nicht durch die Summe der drei Fermente (des proteolytischen, des amylolytischen und des fettspaltenden), sondern durch die ständige Anwesenheit von Fibrinferment im Pankreassaft (in verschiedener Menge) bedingt war. Die asphyktischen Erscheinungen, unter welchen die Thiere nach intravenöser Application von Pankreassaft, sowie von Fibrinferment

zu Grunde gingen, waren absolut identische. In den Fällen, wo die Menge des Fibrinfermentes in dem Pankreassafte nicht gross war, wurde die intravenöse Application desselben von den Thieren gut vertragen.

Mit künstlich dargestellten Fermenten wurden im Ganzen 29 Versuche angestellt.

7.5 ccm einer 5 proc. Lösung von Grübler'schem Pepsin rief bei Kaninchen eine Temperaturerhöhung auf etwa 1° und vorübergehende Gewichtsverminderung hervor; an der Injectionsstelle war keine Veränderung zu constatiren.

Diastase wurde von Kaninchen in der Menge von 0.1 bis 0.4 g sowohl bei subcutaner, als auch bei intravenöser Application gut vertragen. Das Gleiche war in Betreff des Emulsins und Invertins zu vermerken.

Aus den Versuchen geht mit Deutlichkeit hervor, dass Pepsin, Diastase, Emulsin und Invertin sogar bei wiederholter Injection von Thieren schadlos vertragen werden. Die von anderen Beobachtern constatirten Schädlichkeiten sind auf andere Ursachen und Beimengungen, wie Eiweisskörper resp. Zersetzungsproducte von niederen Organismen zu beziehen.

Das lebendige Gewebe des thierischen Organismus besitzt, wie man sieht, die Fähigkeit, Fermente, vorausgesetzt, dass ihre Menge eine nicht zu bedeutende ist, zu vernichten. Ueberschreitet jedoch die Menge des Fermentes gewisse Grenzen, so werden sowohl lebende als auch todte Gewebstheile in gleicher Art verdaut. Die Verdauungsfermente werden auch im Blute rasch zerstört oder aber aus demselben eliminirt; dabei sind keine toxischen Einwirkungen zu beobachten.

Ueber die Bildung von Harnstoff in der Leber der Säugethiere aus Amidosäuren der Fettreihe

von

S. Salaskin.

Zeitschr. f. physiol. Chemie **25**, 128. — Arch. des sciences biolog. **6**, 483. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch. Maly's Jahresber. **28**, 379. — Diese und die in der folgenden Arbeit beschriebenen Versuche sind in einer Inaug.-Dissert., Petersburg (1897), ausführlich mitgetheilt.

Verf. untersuchte, ob die Leber nicht nur aus zugeführten Ammoniaksalzen, sondern auch aus Amidosäuren der Fettsäurereihe Harnstoff zu bilden vermag. Zu den Durchblutungsversuchen diente der von S. Dzierzgowski (Arch. des sciences biolog. **6**, 41. — Dieser Band S. 613) construirte Apparat, der auch im Originale abgebildet ist. Für jeden Versuch dienten zwei Hunde, ein grösserer und ein kleiner, einerseits um 1 bis 1½ Liter Blut zu bekommen, andererseits um nicht mit einer zu grossen Leber manipuliren zu müssen. Jeder Durchblutungsversuch dauerte vier Stunden, jede Durchleitung zehn Minuten, so dass die gesammte Blutmasse etwa 25 Mal die Leber passirte. Nach drei bis fünf Durchleitungen wurde eine Blutprobe

entnommen zur Feststellung des Harnstoffgehaltes, dann die zu prüfende Substanz allmählich zugesetzt. Zur Harnstoffbestimmung diente die Methode von Schöndorff (Pflüger's Arch. **62**, 1) oder auch zur Controlbestimmung statt des Erhitzens mit Phosphorsäure Erhitzen mit Salzsäure im Rohr auf 180°. Leucin und Glycocoll werden dabei nicht, der Harnstoff aber vollständig zersetzt. Die folgende Zusammenstellung enthält die Resultate:

Menge des zugesetzten Glycocolls g	Proc. des umgewandelten Glycocolls	Proc. der Harnstoffanhäufung	Menge des zugesetzten Leucins g	Proc. des umgewandelten Leucins	Proc. der Harnstoffanhäufung
1	73.75	65.70	2	—	18.65
1	81.75	73.81	2	Alles	90.32
2	39.5	74.88	2	85.82	55.55
2	Alles	146.2			

Von der zugesetzten Asparaginsäure (2.2 g) wurden 51.49 Proc. umgewandelt, die Harnstoffmenge stieg um 71.39 Proc. Es besitzt daher die Leber in der That die Eigenschaft, zugeführte Amidosäuren in Harnstoff umzuwandeln. Wahrscheinlich erstreckt sich dies Vermögen auch auf andere stickstoffhaltige Körper, wie Verf. aus der kritischen Beleuchtung der Versuche von Schöndorff (Pflüger's Arch. **54**, 420) schliesst.

Ueber das Ammoniak in physiologischer und pathologischer Hinsicht und die Rolle der Leber im Stoffwechsel stickstoffhaltiger Substanzen

von

S. Salaskin.

Zeitschr. f. physiolog. Chem. **25**, 449. — Autoreferat.

Verf. hat nach der Methode von Nencki und Zaleski[1]) im Blute und Organen von normalen und Eck'schen Hunden Ammoniakbestimmungen ausgeführt. Ausserdem wurden Stickstoff nach Kjeldahl, Harnstoff nach Schöndorff und Ammoniak nach Schlösing im Harne von diesen Hunden bestimmt. Bei den normalen Thieren hat Verf. folgende Werthe für Ammoniakgehalt gefunden.

Arterielles Blut: 1.12, 0.9, 1.2, 1.08, 1.11, 1.19, 0.82, 1.53, 0.82; im Mittel 1.09 (überall bedeuten die Zahlen Milligramme auf 100 g Substanz).

Gehirn 8.0, 10.0, Rückenmark 6.59, 5.57, Lungen 11.36, Leber 27.13, Nieren 18.45, Herzmuskeln 18.10, Kopfmuskeln 18.51, Galle 0.43.

---

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **36**, 385. — Dieser Band S. 518.

Harnanalyse: Ammoniakstickstoff in Procenten vom Gesammtstickstoff $\frac{100 N(NH_3)}{N}$: 5.31, 2.01, 4.63, 4.19, 4.34, 4.46, 6.47, 7.09, 8.00.

Harnstoffstickstoff in Procenten vom Gesammtstickstoff $\frac{100 N(\overset{+}{U})}{N}$: 81.52, 82.82, 86.90, 70.49, 82.04, 80.85, 82.51.

Die Versuche an Eck'schen Hunden gaben folgende Resultate:

Versuch 1. Fistel angelegt am 20 October 1896. Tägliche Fütterungsportion: 450 g Weissbrot und 900 ccm Milch. 4. December. Erste Vergiftungserscheinungen. 5. December. Der Hund ist normal. 18. December. Fleischfütterung, Vergiftungserscheinungen und Tod.

	4. December	5. December	18. December
Ammoniak im Blute	1.1	—	3.28 mg auf 100 g
Harnanalyse $\frac{100 N(NH_3)}{N}$	5.28	6.13	6.89
Harnanalyse $\frac{100 N(\overset{+}{U})}{N}$	76.56	77.77	—

Während der Vergiftungsperiode wurde die ausgeathmete Luft auf ihren Ammoniakgehalt geprüft. Das Resultat fiel negativ aus.

Versuch 2. Fistel angelegt am 15. Mai 1897. Tägliche Fütterungsportion: 200 g Weissbrot und 800 ccm Milch. 28. Mai. Auftreten der ersten schwachen Vergiftungssymptome. Vom 11. Juni bis 20. Juni wurde dem Hunde Fleisch und Fleischpulver dargereicht, um Vergiftungserscheinungen bei ihm hervorzurufen. Am 19. Juni zeigten sich die ersten Symptome. 20. Juni. Stärker ausgeprägte Symptome und Tod, noch bevor Blut entnommen. Ausgeathmete Luft während der Vergiftungsperiode enthielt kein Ammoniak.

Ammoniak im Blute: am 10. Juni 1.1 mg, am 20. Juni 1.07 mg.

Gehirn 21.09, Lungen 10.79, Leber 17.51, Nieren 25.71, Muskeln 33.12, Pankreas 27.13, Magenschleimhaut 17.89, Mageninhalt 54.06, Darmschleimhaut 17.62, Darminhalt 123.6.

Harnanalyse.

Datum	$\frac{100 . N(NH_3)}{N}$	$\frac{100 . N(\overset{+}{U})}{N}$
21. Mai	5.92	71.20
23. "	7.36	68.40
24. "	12.07	60.50
27. "	3.8	—
28. "	11.65	75.89
29. " Erste Portion	5.50	69.16
29. " Zweite Portion	3.01	79.31
31. "	11.6	66.3

Datum	$\frac{100 . N(NH_3)}{N}$	$\frac{100 . N(\overset{+}{U})}{N}$
4. Juni	10.60	75.29
6. „	9.62	74.95
7. „	10.91	71.35
8. „	10.91	72.69
9. „	4.01	81.36
10. „	6.8	86.59
11. „	3.84	—
12. „	7.10	—
13. „	9.67	—
14. „	2.74	—
16. „	7.36	—
20. „ Bei Leben . .	1.04	—
20. „ Nach d. Tode .	2.58	—

Versuch 3. Fistel angelegt am 13. October 1897. Am 5. November wurden dem Hunde 5 g Glycocoll dargereicht. Gleich nachdem sind Vergiftungserscheinungen aufgetreten, epileptische Anfälle und Tod. Im Blute 5.6 mg NH_3; in der Leber 18.21 mg; im Gehirn 44.56 mg. Glycocoll wurde im Harn nicht gefunden. Auffallend war hier der hohe Ammoniakgehalt des Gehirns, der bis auf das Vierfache des normalen stieg.

Die Fälle mit den Eck'schen Hunden im Vergiftungsstadium, welche vom Verf. selbst, von Nencki, Pawlow und Zaleski beobachtet und analysirt wurden, vertheilt Verf. in drei Kategorien:

a) Der Ammoniakgehalt im Blut, im Gehirn und wahrscheinlich in anderen Organen ist im Verhältniss zur Norm erhöht. Der Procentgehalt des Ammoniakstickstoffs im Harn ist gleichfalls gesteigert, der des Harnstoffs aber erniedrigt.

b) Bei erhöhtem Ammoniakgehalt im Blut, Gehirn und in den Organen bleibt das Verhältniss der Stickstoffsubstanzen im Harn unter einander unverändert.

c) Der Ammoniakgehalt im Gehirn und wahrscheinlich in den Organen ist erhöht, im Blut und im Harn stellt seine Menge keine besonderen Abweichungen von der Norm dar.

Verf. stellt das Wesen der Vergiftung bei den mit Eck'scher Fistel versehenen Hunden im Folgenden dar: Der Anfangs normale Hund bekommt stickstoffreiches Futter, das in den Verdauungsdrüsen erzeugte Ammoniak gelangt in das Pfortadersystem; hierzu werden auch die Verdauungsproducte aus dem Magendarmtractus, Albumosen, Peptone, Amidosäuren und Ammoniak zugeführt. Dieses Ammoniak gelangt, ohne die Leber zu passiren, in den allgemeinen Kreislauf. Die Amidosäuren werden oxydirt und liefern auch Ammoniak. Der Organismus wird damit überschwemmt: ein Theil davon wird durch die Nieren ausgeschieden, ein Theil, der mit der A. hepatica der Leber zugeführt wird, wird daselbst in Harnstoff umgewandelt, ein Theil sammelt sich im Centralnervensystem und anderen Organen. Weder im Blute noch im Harn ist zu dieser Zeit ein Ueberschuss von Ammoniak

vorhanden; die Ammoniakanhäufung im Gehirn ruft aber die Vergiftungssymptome hervor. Erholt sich das Thier, so geben die Gewebe ihr Ammoniak an die Leber ab, tritt aber der Tod ein, so erhält man verschiedene Resultate in dem Ammoniakgehalte des Harnes, des Blutes und der Organe, je nach dem Moment, in welchem der Tod eingetreten ist, wodurch die scheinbaren Widersprüche in den bisherigen Befunden erklärt werden.

Von der wahrscheinlichen Annahme ausgehend, dass die urämischen Erscheinungen auf einer Vergiftung mit carbaminsaurem Ammoniak beruhen, hat Verf. in zwei Fällen von urämischem Coma beim Menschen das Gehirn untersucht, ohne von der Norm abweichende Ammoniakmengen zu finden (12.29 mg und 10.48 mg).

Ueber das Chloroproteïnochrom

von

C. Beitler.

Ber. **31**, 1604. — Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Prof. O. Loew abgedruckt. Maly's Jahresber. **28**, 54.

Verf. stellte aus den Verdauungsproducten des Pankreas durch Zusatz von Chlorwasser das einen rothen Niederschlag bildende Chloroproteïnochrom in grösseren Mengen dar, um Zusammensetzung und Eigenschaften kennen zu lernen. Eine gute Ausbeute wurde erhalten, als dem zerkleinerten Ochsenpankreas noch Fibrin zugesetzt wurde. Die Fäulniss wurde durch Chloroformzusatz ausgeschlossen. Die Muttersubstanz jenes Farbstoffs, das Proteïnchromogen, aus dem Gemisch selbst darzustellen, gelang wegen dessen leichter Zersetzlichkeit nicht. Metallsalze und Phosphorwolframsäure fällen sie zwar, wirken aber auch verändernd ein. Dagegen gelang es nach zwei verschiedenen Methoden, das Chloroproteïnochrom von gleicher elementarer Zusammensetzung zu erhalten, welcher Umstand dafür spricht, dass die erhaltenen Zahlen der wahren Zusammensetzung des Chloroproteïnochroms entsprechen. Das erste Mal wurde das Dialysat von der Verdauungsflüssigkeit mit Chlorwasser gefällt, das zweite Mal die enteiweisste Lösung in zwei Fractionen. Bei der Annahme von 1 Atom S im Molekül ergab sich aus den analytischen Resultaten die Formel: $C_{96}H_{116}Cl_3N_{21}S_1O_{31}$. Alkalien wirken bald verändernd auf den Farbstoff ein, gegen Säuren ist er ziemlich beständig; die schön rothen Lösungen in verdünntem Alkohol fluoresciren kupferfarbig, bei längerem Stehen grünlich; sie zeigen ein Absorptionsband zwischen der Wellenlänge 576 bis 484. Längeres Kochen mit Alkohol oder Essigäther zersetzt den Farbstoff und es hinterbleibt schliesslich ein schwarzes Pulver. Mit Kali geschmolzen entsteht unter anderem Pyr[illegible] Indol. Die verdünnte alkoholische Lösung mit Silberoxyd geschü[illegible] frei; das so entstehende Product wird Verf. später weiter un[illegible] grössere Mengen davon erhalten worden sind.

Untersuchung über die Rinderpest

von

M. Nencki, N. Sieber und **W. Wyżnikiewicz.**

Hierzu Tafel IV und V.

Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **23**, 529. — Arch. des sciences biolog. **6**, 374.

Die Aetiologie der Rinderpest.

Die Untersuchungen, deren Resultate wir hier mittheilen, haben wir im Sommer 1895 im Lande der kubanschen Kosaken, wo gerade zu der Zeit die Rinderpest herrschte, unternommen und seit dem Winter des gleichen Jahres bis jetzt in Petersburg im Institute für experimentelle Medicin fortgesetzt. Die erste Mittheilung über das Ergebniss unserer Arbeit veröffentlichten wir im Jahre 1896 in dem russischen Archiv für Veterinärkunde, Juliheft; eine zweite im Jahre 1897 im gleichen Archiv und auch in der Berliner klinischen Wochenschrift, Jahrgang 1897, Nr. 24 [1]). In der letztgenannten deutschen Publication erwähnten wir, dass wir die Abbildungen des von uns gefundenen, die Rinderpest hervorrufenden Mikroben in Culturen und in den Organen pestkranker Thiere an einem anderen Orte zum Abdruck bringen werden. Wir kommen jetzt unserem Versprechen nach. Wir beschreiben zunächst unsere Untersuchung bezüglich der Aetiologie der Rinderpest und werden später über unsere Versuche zur Immunisation und Heilung dieser Krankheit berichten.

Wie in den genannten Publicationen mitgetheilt wurde, ist der die Rinderpest hervorrufende Mikrobe ein ganz eigenthümlicher, er gehört nicht zu den Spaltpilzen, und es bedurfte vieler und umständlicher Versuche, bis es uns endlich gelang, ihn in Culturen auf künstlichen Nährböden zu erhalten. Folgende Nährsubstrate haben sich als brauchbar erwiesen:

1. Extract der Speicheldrüsen. 1 bis 2 kg frisch aus dem Schlachthause bezogener Submaxillardrüsen vom Rind werden herauspräparirt, in einer Fleischmaschine fein zerhackt, mit dem fünffachen Gewicht destillirten Wassers übergossen und unter heftigem Umrühren 20 bis 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen. Man filtrirt durch Fliesspapier und das dickliche Filtrat wird sofort durch Chamberlandkerzen in sterile Gefässe filtrirt. Die Kerzen sind vorher auf ihre Durchlässigkeit zu prüfen. Sie dürfen keine Bacterien durchlassen und andererseits nicht zu dick in der Wandung sein. Von diesem Mucin bereiten wir drei Sorten, nämlich: 1. ohne allen Zusatz, 2. mit vorherigem Zusatz von 3 Proc. NaCl, und 3. mit einem Zusatz von 0.2 bis 0.5 pro Mille an Kali oder Natronhydrat + 2 bis 3 Proc. Na Cl.

[1]) Siehe diesen Band S. 602.

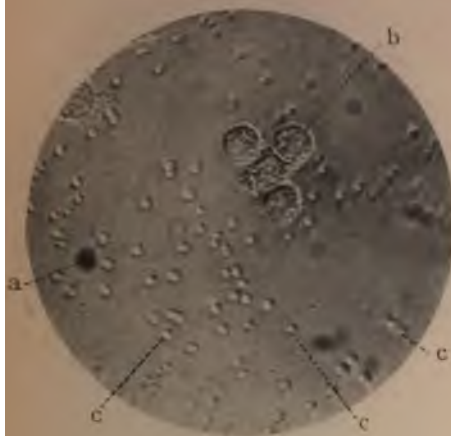
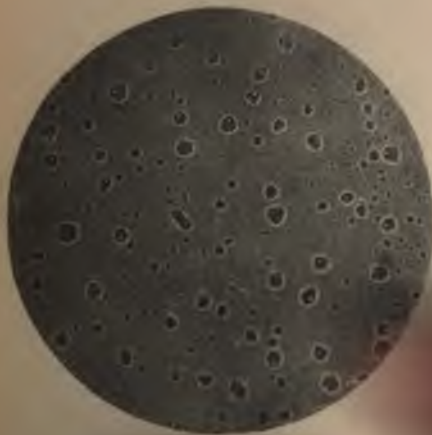
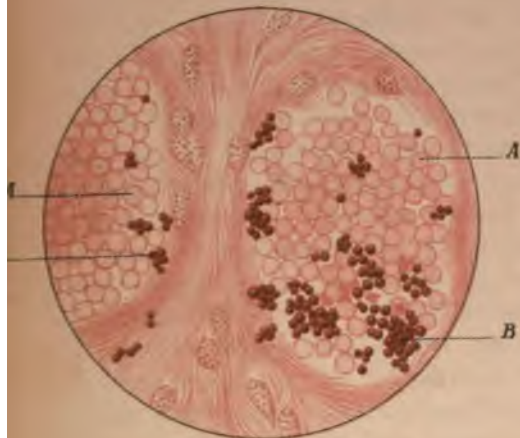
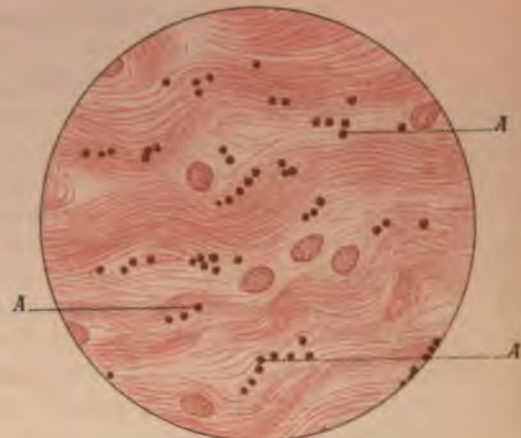
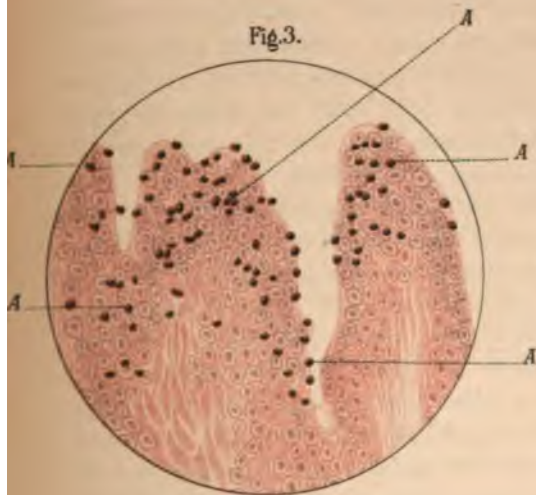
Tafel IV.
Fig. 1.
a
b
c
c
c
Fig. 3.
Fig. 2.
Fig. 4.
Nencki,

Tafel V.

Fig.1.

Fig.2.

Fig.3.

Fig.4.

Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

2. Peptonkochsalzlösung wurde bereitet durch Auflösen von 100 g Pepton „Witte" in 900 g Wasser. Der Lösung wurden 20 g NaCl zugesetzt, filtrirt, in Probirröhrchen gegossen und im Autoclaven sterilisirt.

3. Agar mit unorganischen Salzen. 10 bis 15 g Agar werden zunächst durch zwei- bis dreimaliges Aufgiessen von destillirtem Wasser ausgelaugt, hierauf in 1 Liter heissem Wasser gelöst. Der Lösung wurden zugesetzt: 0.5 g phosphorsaures Kalium (PO_4HK_2), 1 g calcinirte Soda (CO_3Na_2), 2.5 g neutrales schwefelsaures Ammon [$SO_4(NH_4)_2$] und 5 bis 10 g Kochsalz. Die Lösung wird filtrirt und im Autoclaven sterilisirt. Selbstverständlich verflüchtigt sich bei der Sterilisation ein Theil des Ammoniaks. Die Herstellung dieser Nährlösungen wurde in der Berliner klinischen Wochenschrift (l. c.) angegeben; auch das Wachsthum der Mikroben darauf wurde schon dort von uns beschrieben. Zum Verständniss der Abbildungen ist es jedoch nöthig, noch einmal darauf zurückzukommen. Und da wir unserer Beschreibung nur Weniges hinzuzufügen haben, so erlauben wir uns, die betreffende Stelle aus der Berliner klinischen Wochenschrift hier anzuführen.

Werden diese Nährlösungen mit einer bis drei Platinösen pesthaltigen Materials geimpft und bei Bruttemperatur stehen gelassen, so sieht man schon am zweiten Tage ausser Bacterien blassglänzende, 1 bis 3 μ grosse, meistens runde Gebilde. Einzelne sind oval, birnenförmig oder spitz ausgezogen. An den grösseren Individuen sieht man Ausbuchtungen und an einzelnen ein in der Mitte liegendes Körnchen. In Culturen aus Galle, den Organen, Erosionen, Magen- oder Darminhalt, wo kleinste Fetttröpfchen beigemengt sind, sind diese Organismen schwer davon zu unterscheiden. Durch Zusatz von Osmiumsäure werden sie nicht wie die Fetttröpfchen geschwärzt. Da bei den Ueberimpfungen aus den Organen das Mitauswachsen der Spaltpilze sehr störend ist, so benutzen wir für die Impfungen vorzugsweise Galle und Blut. Zur Ueberimpfung aus den Organen — am besten Uterusschleim oder Milz — ist das Material nur dann geeignet, wenn die Thiere nach Ausbruch der Krankheit vor Abfall der Temperatur getödtet und das Ueberimpfen sofort vorgenommen wird. Blut bietet den Vortheil, dass es in jedem Stadium der Erkrankung leicht aus den Ohrvenen steril erhalten werden kann. Untersucht man das mit physiologischer Kochsalzlösung passend verdünnte Blut nach Ausbruch des Fiebers, so sieht man nicht in jedem, wohl aber in jedem dritten bis fünften Präparate ausser den rothen und weissen Blutkörperchen und Blutplättchen die gleichen runden Gebilde, welche wir in Culturen erhalten und als infectiös erkannt haben. Sie erscheinen nur hier blasser, unbeweglich, manchmal mit einem bis zwei Fortsätzen. Trocknet man das Präparat bei gewöhnlicher oder höherer Temperatur ein und färbt nach den üblichen Methoden der Bacterienfärbung, so ist das Resultat insofern völlig negativ, als nichts deutlich Definirbares zu sehen ist. Fixirt man das Blutpräparat vorher mit Osmiumsäure oder Osmium- + Essigsäure, Alkoholäther oder Chloroform und färbt mit Methylengrün, Hämatoxylin, Fuchsin, Methylenblau, Magentaroth und Neutralroth oder direct mit der Rhumbler'schen Lösung (vergl. Rhumbler im Zool. Anzeiger, 16. Jahrg. 1893, S. 47), so nehmen diese Gebilde den Farbstoff, wenn auch nur schwach, auf. Die Präparate sind jedoch nicht haltbar. Beim Eintrocknen werden sie undeutlich und später ist nichts

mehr sichtbar. Ebenso lassen sie sich weder in Glycerin, noch in Canadabalsam aufbewahren. Wir müssen hervorheben, dass diese Gebilde schon bei oberflächlicher mikroskopischer Besichtigung einen so zu sagen physikalischen Unterschied zeigen, indem sie manchmal stärker glänzend, ein anderes Mal mehr matt erscheinen. Die stärker glänzenden Formen nehmen überhaupt keine Farbe auf, die matt erscheinenden lassen sich nach längerer Behandlung, wenn auch nur schwach, tingiren.

Da die Auffindung dieser Mikroben in den Blutpräparaten ziemlich schwierig ist, so ist es zweckmässig, vorerst die Blutkörperchen durch Wasserzusatz zu zerstören. Mit weniger als dem gleichen Volumen destillirten Wassers versetzt, wird das Blut sofort lackfarbig und bei mikroskopischer Besichtigung, jetzt, wo die Blutkörperchen zerstört sind, sind die runden Gebilde viel leichter zu finden. Immerhin ist ihre Zahl im Blute nicht so gross und namentlich nicht gleichmässig. In einzelnen Präparaten sieht man sie nur vereinzelt, in anderen kann man ihrer 20 und mehr im Gesichtsfelde zählen, manchmal vermissten wir sie ganz. Ihre grösste Menge findet man bei solchen pestkranken Thieren, welche lange fiebern. Solchen protrahirten Krankheitsverlauf und meistens mit letalem Ausgang kann man leicht bei Kälbern hervorrufen, wenn man sie mit Serum von Kälbern, die die Pest überstanden haben, schwach vorimmunisirt. Wir kommen bei Besprechung der Immunisation noch einmal hierauf zurück. Kälber, die nach Ausbruch des Fiebers acht bis zehn Tage lang eine Temperatur von 41° und darüber haben, enthalten nicht allein im Blute, sondern in allen Organen und im Verdauungstractus in bedeutend grösseren Mengen diese blassglänzenden, runden Gebilde, eine Thatsache, welche als Beweis für die Specificität dieses Mikroben angesehen werden kann. In solchen Fällen gelang es, durch Ueberimpfungen von der Magenschleimhaut, von der Leber und vom Blute auf die oben angeführten Nährböden den blassglänzenden Mikroben in Culturen zu erhalten, und sind die mit den Culturen inficirten Kälber sämmtlich an typischer Rinderpest zu Grunde gegangen.

Noch auf eine andere Weise lässt sich die Gegenwart dieses Mikroben im Blute demonstriren. Ein wesentliches Hinderniss für ihre Beobachtung ist die eintretende Blutgerinnung. Um diese zu vermeiden, werden hohe Glascylinder oder Probirröhrchen zu einem Drittel mit 0.6 proc. Na Cl-Lösung, die noch 1 p. m. neutrales Natriumoxalat enthält, gefüllt. Man lässt hierauf direct aus der Vene nicht mehr als das gleiche Blutvolumen hineinfliessen, schüttelt um und lässt es an einem ruhigen Orte stehen. Solches Blut gerinnt nicht oder es bilden sich nur spärliche Gerinnsel. Nach zwei- bis viertägigem Stehen haben sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt und die oberste Schicht der Blutkörperchen enthält meist zahlreich diese charakteristischen, blassglänzenden Gebilde mit Blutplättchen vermengt. Bei oberflächlicher Betrachtung ist eine Verwechslung von unserem Mikroben mit diesem normalen morphotischen Bestandtheil des Blutes wohl möglich, zumal, wie schon L. Riess (Reichert's und du Bois-Reimond's Archiv 1872, S. 237), der sie Zerfallkörperchen nannte, bemerkt, die Blutplättchen durchaus nicht so vergänglich sind und nach unseren Beobachtungen am Rinderblute, selbst nach Zerstörung der rothen Blutzellen mit destillirtem Wasser, noch immer zu sehen sind (vergl. auch

Bizzozero in Virchow's Archiv 90, 282). Im Vergleich zu den Blutplättchen erscheint unser Mikrobe kleiner, rund oder oval, aber nicht platt, scharf conturirt, frei von Körnchen im Innern, klebt nicht am Deckglase und wird durch Zusatz von Methylviolett in physiologischer Kochsalzlösung nicht gefärbt, während die Blutplättchen den Farbstoff leicht aufnehmen. Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass unser Mikrobe auch ausserhalb der Blutgefässe in den Geweben vorkommt, während die Blutplättchen nach den übereinstimmenden Angaben der Autoren nur in den Blutgefässen und nicht einmal in der Lymphe enthalten sind (vergl. S. Druebin im Archiv f. Anat. u. Physiol., physiol. Abth., Suppl. 1893).

Bezüglich der Frage, ob der Mikrobe nur frei in der Blutflüssigkeit oder auch in den morphotischen Elementen, speziell den rothen Blutzellen, enthalten ist, haben wir Folgendes beobachtet:

1. Lässt man Blut, namentlich von lange fiebernden Kälbern, zwei bis drei Tage ruhig stehen und fertigt hierauf ein mikroskopisches Präparat aus der obersten Blutschicht an, so sieht man manchmal, jedoch nicht immer, dass die rothen Blutzellen wie in Fragmente zerfallen sind und inmitten der Fragmente blassrunde Gebilde. An einzelnen rothen Blutkörperchen ist diese Fragmentirung nur angedeutet, während sich in ihrem Innern eins bis drei solcher blasser Körperchen befinden.

2. Wird Pestblut in möglichst dünner Schicht auf ein Objectglas aufgetragen, an der Luft getrocknet, hierauf in Alkoholäther liegen gelassen und dann mit dem Dreifarbengemisch von Biondi gefärbt, mit Alkohol abgewaschen und in Canadabalsam untersucht, so sind in einzelnen rothen Blutzellen braunroth gefärbte Gebilde zu sehen, die möglicherweise der specifische Mikrobe oder seine Entwickelungsform sind. In weissen Blutzellen und den Zellen der Milzpulpa haben wir nicht färbbare, blassglänzende Gebilde gesehen, die allem Anscheine nach unsere Mikroben sind. Augenfällige physikalische Unterschiede zwischen dem normalen und pestkranken Blute haben wir nicht wahrgenommen. Dagegen ist das Blut hochimmunisirter Thiere merklich dicker und aus dem Blutkuchen scheidet sich das Serum schlecht ab.

Auf genannten Nährböden cultivirt, geht dieser Mikrobe nach kurzer Zeit zu Grunde. Während Organe der an Pest gefallenen Thiere bei niedrigen Temperaturen in 10 proc. NaCl-Lösung mehrere Monate ihre Virulenz bewahren, ist es uns bis jetzt nur dreimal gelungen, mit vierter Generation tödtliche Pesterkrankung beim Kalbe hervorzurufen. Seine Vermehrung auf den künstlichen Nährböden ist daher im Vergleich zu der Vermehrung in den Organen erkrankter Thiere nur eine kümmerliche. In den Probirröhrchen mit Peptonkochsalz oder Mucin sieht man kaum eine Trübung, kein oberflächliches Wachsthum. Am sichersten findet man ihn in der Mitte der Nährlösung oder im Bodensatz, weshalb die Proben für mikroskopische Untersuchungen nicht mit einer Platinöse, sondern mit einer Capillarpipette zu entnehmen sind. Auf Agar bildet der Mikrobe keine Colonien, wodurch er sich von den Spaltpilzen unterscheidet. Wir entnahmen vom Agar meistens vom Rande der geimpften Stelle, wo eine leichte Opalescenz zu sehen war, kleine Partikelchen und untersuchten sie mikroskopisch. Waren darin die blassen, runden Gebilde vor-

handen, so benutzten wir diese Partikel zur Ueberimpfung, nachdem sie vorher mit etwas Peptonbouillon verrieben wurden. Dass unsere Culturen nicht eine einfach mechanische Uebertragung des Contagiums waren, dafür spricht die Thatsache, dass wir nur auf den oben genannten Nährsubstraten infectiöses Material erzielen konnten. Culturen auf Gelatine, Bouillon, Serum, Hämoglobinlösungen, Eiern, Kartoffeln, verschiedenen Pflanzeninfusen (Heu, Hafer, Bierwürze) mit verschiedenem Gehalt an Alkalisalzen und sonstigen Zusätzen waren nicht infectiös, auch in erster Generation nicht. Culturen auf mucinhaltigen Nährböden, Peptonsalz oder unorganischem Agar bei Zimmertemperatur oder Bruttemperatur und Luftausschluss waren ebenfalls unwirksam. Dass die Virulenz der Culturen von anscheinend unbedeutenden Momenten abhängig ist, das haben wir namentlich bezüglich der Temperatur beobachtet. Wiederholt sahen wir, dass Kälber mit Culturen aus erster resp. zweiter Generation aus Galle resp. Maulerosion, die bei 37.5° gestanden hatten, geimpft, nur leicht erkrankten und genasen. Wurden dann die gleichen Kälber mit der gleichen Cultur, die aber vier Tage lang bei 37.5 bis 38° und nur die letzten 24 Stunden bei 40° gestanden, inficirt, so erkrankten sie schon am zweiten resp. dritten Tage mit Temperaturen über 41° mit heftigem Stöhnen, typischen Auflagerungen und Erosionen an den Lippen und Zunge und gingen am siebenten resp. achten Tage zu Grunde. Es empfiehlt sich ferner, jeden Tag zu überimpfen und die Culturen längere Zeit — fünf bis acht Tage — bei der Bruttemperatur stehen zu lassen. Zusatz von Kochsalz, namentlich zu Pepton, begünstigt die Virulenz, hindert auch die Ueberwucherung der Cultur durch Bacterien. Erforderlich ist ferner alkalische Reaction des Nährsubstrates. Die Alkalescenz des Blutes und der Gewebe ist beim Rind stärker als beim Fleischfresser. Zu den Organen, in welchen der Pestmikrobe bei niedriger Temperatur und in 10 proc. Kochsalzlösung sich am längsten conservirt, gehört nach unseren Beobachtungen der Labmagen. Bemerkenswerth ist es daher, dass bei pestkranken Thieren die Schleimhaut des Labmagens schon intra vitam nicht mehr sauer, sondern alkalisch reagirt. Als ein signum mali ominis ist bei der Rinderpest der Uebergang in den Harn von Mucin, resp. einer durch überschüssige Essigsäure fällbaren albuminoiden Substanz zu betrachten. Bei mehr als 100 pestkranken Thieren haben wir die Gegenwart von Mucin im Harne auf der Höhe der Krankheit, resp. kurz vor dem letalen Ende nie vermisst. Die gleichen Nährsubstrate, nämlich das Mucin und der Agar, mit unorganischen Salzen, auf welchen unser Pestmikrobe nur kümmerlich gedeiht, sind ausgezeichnete Nährböden für die Amöben und Flagellaten, jedoch nicht bei alkalischer, sondern neutraler Reaction. Auf Kochsalzpepton oder Bouillon wachsen sie nicht. Da wir die Amöben, und zwar die Amoeba guttula und die Amoeba coli, nicht allein in der Schleimhaut der Mundhöhle, des Magens, des Darms und des Uterus, sondern auch in inneren Organen, wie Leber und Milz, hier allerdings nicht constant, bei pestkranken Thieren gefunden und auf den obengenannten Nährsubstraten gezüchtet haben, so war es angezeigt, zu untersuchen, ob die Amöben nicht in einem ursächlichen Zusammenhange mit der Rinderpest stehen.

Unsere zahlreichen Impf- und Fütterungsversuche mit den isolirten Amöben haben uns zu dem Ergebniss geführt, dass die Amöben unseren Pestmikroben in

sich aufnehmen können, ähnlich wie sie das mit den Bacterien thun, dass aber die Amöben als solche mit der Rinderpest nichts zu thun haben.

Unter 21 Thieren (17 Kälber, 2 Ziegen und 2 Schafe), die von uns mit Culturen geimpft und an Pest gestorben sind, war nur ein einziges Kalb mit der ersten Generation, die zehn Tage bei Bruttemperatur gestanden, und wo die gleiche, zwei Tage alte Cultur, wirkungslos war, inficirt. Von den übrigen erhielten zehn Thiere die zweite, sieben die dritte und drei die vierte Generation. Alle Organe und Säfte pestkranker Thiere enthalten den Pestmikroben, Harn und Galle nicht ausgenommen. Wird Galle von pestkranken Thieren centrifugirt, so ist nicht allein der Bodensatz, sondern auch die oberste Flüssigkeitsschicht infectiös. Von acht Kälbern, denen Galle oder Culturen aus Galle auf Mucin oder Peptonsalz subcutan injicirt wurden, sind alle an typischer Pest zu Grunde gegangen. Erst dreizehn Tage nach dem Tode des Thieres aufbewahrte Pestgalle, gesunden Kälbern injicirt, blieb unwirksam. Die verschiedenen, anlässlich der Pestepidemie in Afrika hierüber veröffentlichten Berichte sind vielleicht durch das Alter der Thiere — wir experimentirten nur mit Kälbern — oder Verschiedenheit der Rassen bedingt.

Da die Extracte aus allen Organen pestkranker Thiere infectiös sind, so ist consequenter Weise auch der Pestmikrobe darin enthalten. Von dem Chamberland'schen oder Berkefeld'schen Filter werden sie zurückgehalten und sind Filtrate virulenter Organextracte vollkommen unschädlich. Zahlreiche Untersuchungen mikroskopischer Schnitte haben uns zu dem Ergebniss geführt, dass in allen Organen Gebilde, ähnlich denen, die wir in infectiösen Culturen fanden, vorhanden sind. In gehärteten und nicht gefärbten Präparaten sind es kugelige Gebilde von eigenthümlichem, porcellanähnlichem Glanz, meistens $^1/_3$ bis $^1/_4$ so gross wie ein rothes Blutkörperchen, vereinzelt oder in Haufen. Da wo sie in Haufen sind, erscheinen sie von verschiedener Grösse bis zu einer Kleinheit von etwa 0.2 μ. Gleich wie in Culturen sind sie auch in mikroskopischen Schnitten schwer zu tingiren. Wie zu erwarten war, sind diese Gebilde in relativ grösster Menge in den Organen solcher Thiere, die an protrahirter Pest zu Grunde gegangen sind. Nach den Schnitten zu urtheilen, ist die Vertheilung des Mikroben sehr ungleichmässig. Oefters ist in vielen Schnitten nichts zu finden, während in anderen Präparaten er fast in jedem Schnitte, manchmal in grosser Menge, vorhanden ist. Am häufigsten findet man ihn in den Blutgefässen, sodann in der submucösen Schicht der Magen- und Darmschleimhaut. Zweckmässig ist es, die zu untersuchenden Theile in etwa $^1/_2$ ccm grossen Würfelstückchen zu nehmen, um hernach Schnitte in allen Richtungen ausführen zu können. Zur Fixirung der Präparate eignet sich besonders die Flemming'sche Flüssigkeit. Nach den ersten 24 Stunden wird die Flüssigkeit durch eine neue ersetzt. Die Präparate werden darin 3 bis 14 Tage gelassen. Längeres Liegen ist nicht zweckmässig, da die Stücke sonst zu brüchig werden. Nach gehöriger Fixation werden die Stücke mit Wasser abgewaschen und in Alkohol wie üblich stufenweise übertragen. Die Stücke werden in Paraffin eingebettet und die Schnitte mittelst Mikrotom angefertigt. Waren die Präparate zu brüchig, so wurden sie an Objectträger angeklebt. Von einer ganzen Reihe verschieden präparirter Farbstofflösungen erwiesen sich für die Schnitte noch als die brauchbarsten:

1. Magentaroth, 2. Neutralroth und 3. Safranin. Von der gesättigten alkoholischen Lösung von Magentaroth wird soviel im Uhrglase mit Wasser vermischt, bis die gewünschte Concentration erzielt ist, was ungefähr einer 1 proc. Lösung entspricht. Die Schnitte bleiben vier bis fünf Stunden in der Lösung. Hierauf werden sie mit Wasser abgewaschen, durch Alkohol entwässert und in Nelkenöl aufgehellt. Es erscheinen dann auf schwach rosa tingirtem Grunde die Zellkerne roth und der Pestmikrobe, wenn die Farbstofflösung zu kurz eingewirkt hat, gar nicht gefärbt, bei gut ausgefallener Färbung entweder orangeroth oder bei Ueberfärbung braunroth. Bei Anwendung von Safranin ist die Gefahr der Ueberfärbung selbst nach 24 stündigem Liegen nicht so gross, da das Präparat durch Nelkenöl gut aufgehellt wird. Neutralroth wurde in 2 proc. wässeriger Lösung angewendet. Der Pestmikrobe wird dadurch nach 24 stündiger Einwirkung gelbroth und das Gewebe hellroth tingirt.

Von den anderen Fixirungsmethoden hat uns Formalin und Essigsäure gute Bilder gegeben. Nach diesem Verfahren erscheint der Pestmikrobe bräunlich tingirt, so dass er auch ohne Anwendung von Farbstoff in dem umliegenden Gewebe erkennbar ist. Bemerken wollen wir noch, dass unter den vielen gefärbten Schnitten, die wir angefertigt haben, in den seltensten Fällen ausser den runden Gebilden noch Coccen oder Bacterien zu sehen waren. Dieser Befund bestätigt unsere Angaben, sowie die von Semmer (Deutsche Zeitschr. f. Thiermedicin **22**, 32), dass die Rinderpest durch keine aus dem Blute oder den Organen pestkranker Thiere isolirte Spaltpilzart verursacht wird.

Ueber die Vermehrungsweise des Pestmikroben können wir Folgendes mittheilen: Unter den mehr mattglänzenden, runden Kugeln sieht man hier und da je zwei — eine grössere und eine kleinere — mit einander verwachsen, einer knospenden Hefe mit ihrer Tochterzelle vergleichbar. Direct haben wir beobachtet, dass unter leisen Drehungen an der grösseren zunächst eine Ausbuchtung und nachher die Abschnürung einer dritten sich vollzog. Der Vorgang dauerte etwa $^1/_4$ Stunde. Vermuthlich ist dies nicht die einzige Art der Vermehrung; dafür spricht folgende, wiederholt gemachte Beobachtung. Wird Blut von pestkranken Schafen oder Kälbern in Peptonkochsalz geimpft — drei Tropfen Blut auf 10 ccm der Peptonlösung — oder wird der anorganische Agar in Petrischalen mit mehreren Bluttropfen an verschiedenen Stellen inficirt und nach zweitägigem Stehen der Agarplatte bei Bruttemperatur etwas vom Rande des geimpften Bluttropfens in Peptonkochsalz übertragen und hierauf zwei bis vier Tage bei 38° stehen gelassen, so sieht man bei mikroskopischer Besichtigung ausser den kleinen blassglänzenden Kugeln auch grössere Gebilde von 3 bis 6 μ (siehe Tafel IV, Fig. 3). Diese kugeligen Gebilde bestehen aus einem centralen Kerne, umgeben von einem hellen Hofe, dann einem dunkleren Ringe und wieder einem hellen Hofe. Am dritten bis fünften Tage sieht man an einzelnen Gebilden statt des einen centralen Kernes eine grössere Anzahl, bis zu zehn, kleinere, bräunlich gefärbte Kerne, aller Wahrscheinlichkeit nach aus dem centralen Kerne entstanden. Dabei vergrössert sich das kugelige Gebilde und erreicht die Grösse eines rothen Blutkörperchens. Einzelne Gebilde davon bestehen aus zwei zusammenhängenden Individuen, was den Eindruck macht,

als ob die Zellen gleichzeitig durch Knospen- und Sporenbildung sich vermehren. Nach fünf- bis siebentägigem Stehen vermindert sich die Zahl der grossen Kugeln mit den concentrischen Ringen und statt deren werden bei starker Vergrösserung zahlreiche, 0.5 bis 1.0 μ kleine, bräunlich gefärbte, meistens in lebhafter Bewegung befindliche Gebilde sichtbar. Ausser den bräunlich gefärbten sieht man dann auch gleich grosse, aber blassglänzende Körnchen. Solche Culturen, und zwar frei von Bacterien, haben wir erhalten, wenn das Blut nach Abfall der Temperatur oder wenige Stunden nach dem Tode entnommen wurde. Blut von Cadavern, im Sommer selbst gleich nach dem Tode, enthält schon Spaltpilze und eignet sich für diese Culturen nicht mehr. Wir haben die Virulenz der oben beschriebenen Culturen durch tägliche Impfungen von Kälbern verfolgt und gefunden, dass erst mit Auftreten der frei beweglichen, 0.5 bis 1,0 μ grossen, bräunlich gefärbten und blassglänzenden, hellen Gebilde die Kälber an Rinderpest erkranken. Ein Kalb, mit der dritten Generation einer fünf Tage alten Cultur vom Schafblute, in welcher diese Körnchen zahlreich und ganz frei von Bacterien vorhanden waren, inficirt, erkrankte am fünften Tage und starb an typischer Rinderpest. Als wir eine solche vier Tage alte Peptoncultur, die nur aus den Gebilden mit concentrischen Ringen bestand, mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Kochsalzlösung vermischten und nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur mikroskopirten, war von den ursprünglichen Gebilden nichts mehr zu sehen. Statt dessen fanden wir agglutinirte Kugelhaufen, ähnlich denen, wie wir sie in mikroskopischen Schnitten erhalten haben (vergl. Tafel IV, Fig. 4). Dass die Kugeln mit concentrischen Ringen genetisch mit dem Pestmikroben in Zusammenhang stehen, können wir nicht mit Bestimmtheit behaupten, da wir die einzelnen Uebergangsphasen nicht ununterbrochen unter dem Mikroskope verfolgen konnten. Die vielen von uns vorgenommenen Impfversuche machen entschieden den Eindruck, dass auf den künstlichen Nährböden nur in einer bestimmten Entwickelungsphase der Pestmikrobe virulent ist, resp. Infection hervorruft. Das, was wir über die Vermehrung der Mikroben gesehen haben, erinnert an die Vermehrung der Blastomyceten. Bei der Vergänglichkeit der Culturen, dem Mangel von Colonien und den vielen sonstigen Eigenthümlichkeiten dieses Mikroben wäre es voreilig, ihn schon jetzt in eine bestimmte Classe der Mikroorganismen unterbringen zu wollen. Dies kann erst nach gründlicher Erforschung seiner Natur und seiner Lebensbedingungen geschehen. Damit wird voraussichtlich unsere Kenntniss der Aetiologie einer ganzen Gruppe menschlicher Infectionskrankheiten, wie Pocken, Scharlach, Masern u. s. w., einen wesentlichen Fortschritt machen. Herrn J. Zaleski, Assistenten an der chemischen Abtheilung des Institutes, sagen wir für seine hülfreiche Unterstützung unseren verbindlichsten Dank.

26. Januar 1898.

Erklärung der photographischen Tafel IV.

Fig. 1. Bluttropfen vom Kalbe, das an protrahirter Rinderpest d[illegible] mit Serum und nachherigem Contact mit pestkranken Kälbern am 12. [illegible] des Fiebers verendete. Die rothen Blutkörperchen sind durch Zusatz

Wasser zerstört. Der Pestmikrobe ist zahlreich vorhanden. *a* ein unzerstörtes rothes Blutkörperchen, *b* weisse Blutzellen, in deren Innern dem Pestmikroben ähnliche Gebilde vorhanden sind, *c* Pestmikroben.

Fig. 2. Dritte Generation des Pestmikroben aus Uterusschleimhaut auf unorganischem Agar gezüchtet. Die Cultur stand fünf Tage bei Bruttemperatur, worauf ein damit inficirtes Kalb an typischer Rinderpest zu Grunde ging.

Fig. 3. Cultur aus Blut, dritte Generation auf Kochsalzpepton, bei Bruttemperatur nach zwei- bis fünftägigem Stehen. Es waren hier grössere kugelige Gebilde, 3 bis 6 μ gross, vorhanden. Einzelne hatten in der Peripherie einen hellen Hof, hierauf einen dunkleren Ring, hierauf wieder einen hellen Hof und in der Mitte einen dunkleren Kern. Die Kugeln sind einzeln oder zu Paaren vorhanden. Am dritten bis fünften Tage war statt des centralen Kernes eine grössere Anzahl von kleineren Kernen vorhanden. In einem noch späteren Stadium, nach fünf bis sechs Tagen, verminderte sich die Zahl der grösseren Kugeln und statt deren waren in den Präparaten in grosser Menge die kleinen Körperchen, 0.3 bis 1.0 μ gross, einzelne bräunlich gefärbt, andere farblos, frei umherschwimmend und in lebhafter molekularer Bewegung, sichtbar.

Fig. 4. Die Peptoncultur der in Fig. 3 photographirten Gebilde wurde am fünften Tage mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung übergossen und 40 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. In der Cultur war danach die Kugel mit concentrischen Ringen verschwunden. Statt deren waren nur Formen, ähnlich den in mikroskopischen Schnitten abgebildeten, zu sehen.

Erklärung der lithographischen Tafel V.

Fig. 1. Querschnitt durch zwei Blutgefässe in der submucösen Schicht der Peierschen Plaques von einem mit Rinderpest durch Contact inficirten und am vierten Fiebertage getödteten Kalbe. Härtung nach Flemming. Färbung mit Neutralroth. *A* der Pestmikrobe, *B* rothe Blutkörperchen.

Fig. 2. Längsschnitt durch ein Blutgefäss im submucösen Gewebe des Dünndarmes vom gleichen Kalbe. Härtung nach Flemming. Färbung mit Neutralroth. *A* der Pestmikrobe.

Fig. 3. Zotten des Dünndarmes von einem an Pest verendeten Kalbe. Härtung nach Flemming. Färbung mit Magentaroth. *A* der Pestmikrobe.

Fig. 4. Schnitt durch die Niere eines an protrahirter Pest verendeten Kalbes. Das Kalb war durch Einspritzung von schwachem Serum vorimmunisirt, erkrankte zehn Tage nach der letzten Injection durch Contact mit pestkranken Kälbern und starb erst am zwölften Tage nach Ausbruch des Fiebers. Härtung zuerst mit Spiritus, dann mit Flemming'scher Flüssigkeit. Färbung mit Hämatoxylin. *A* der Pestmikrobe.

Sämmtliche Bilder sind nach einer Vergrösserung mit C. Reichert's Ocul. 4, Obj. 9, Tubuslänge 185 gezeichnet.

Zur Frage über die Beziehungen zwischen dem antidiphtherischen Heilserum und dem Diphtherietoxin

von

S. Dzierzgowski.

Arch. internationales de Pharmacodynamie **5**, 1. — Arch. des sciences biolog. **6**, 349. — Gazeta Lekarska (1898), No. 25. — Nach dem Referate von Prof. J. F. Heymans. Maly's Jahresber. **28**, 819.

Zwecks vorliegender Untersuchungen, welche sich denjenigen Wasserman's[1]) über das Verhalten des Toxins und Antitoxins des grünen Eiters beim Erwärmen anlehnen, ist zu bestimmen, ob ein Gemisch von diphtheritischem Toxin und Antitoxin bei höherer Temperatur sich in seine Componenten zerlegt. Dazu wurde zuerst festgestellt, bei welcher Temperatur das Toxin und Antitoxin, wenn separatim erwärmt, abgeschwächt wird, resp. seine Wirksamkeit vollkommen verliert; es zeigte sich, dass das Serum beim Erwärmen bei 50 bis 60° seine Kraft fast vollkommen bewahrt, bei 60 bis 65° dieselbe abgeschwächt und bei 65 bis 70° vollkommen zerstört wird; andererseits verfügte Verf. über ein Toxin, welches bei dreistündigem Erwärmen auf 55° sowohl seine giftigen Eigenschaften als die Fähigkeit, Infiltrat zu erzeugen, völlig verlor. Sollten also Toxin und Antitoxin bei ihrem Zusammenbringen keine chemischen Verbindungen eingehen, sondern in dem Gemische im freien Zustande bleiben, so musste das physiologisch-neutrale Gemenge beim Erwärmen auf 55° activ werden. Es stellte sich aber heraus, dass im erwärmten Gemische kein freies Antitoxin enthalten ist. Dieses Ergebniss kann auf dreierlei Weise erklärt werden, deren jede experimentell geprüft wird; es wird unter anderem gezeigt, dass beim Erwärmen des Toxins auf 55° mit doppelter Menge Serum, als zu seiner Neutralisation nothwendig ist, die fremden Bestandtheile des Toxins die Kraft des überschüssigen Antitoxins nicht vernichten. Beim Erwärmen auf 60 bis 70° konnte weder freies Toxin noch Antitoxin nachgewiesen werden. Diese Daten machen also wahrscheinlich, dass entweder die Temperatur, bei welcher die Dissociation des Diphtherietoxin-Antitoxins stattfindet, die Grenze der Widerstandsfähigkeit der beiden überschreitet, oder dass sowohl Toxin als Antitoxin durch das Erwärmen allein nicht regenerirt werden können und diese Ergebnisse sprechen entschieden zu Gunsten der Theorie, dass in einem Gemisch von Toxin und Antitoxin beide Körper in einem veränderten Zustande enthalten sind, also zu Gunsten der Neutralisationswirkung.

---

[1]) Zeitschr. f. Hygiene u. Infectionskrankh. **22**, 263 (1896).

Ueber das Schicksal des Diphtherietoxins im Thierkörper

von

S. Dzierzgowski.

Врачъ No. 13 (1898). — Referirt von den Herausgebern.

Der Zweck vorliegender Untersuchung war, festzustellen: 1. Ob das Diphtherietoxin im Thierkörper nach subcutaner Application verändert wird und an welchem Orte dieses stattfindet. 2. Ob das Diphtherietoxin nach intravenöser oder subcutaner Einverleibung mit dem Harn ausgeschieden wird.

Die Ergebnisse der Untersuchung waren folgende:

1. Der Harn eines Kaninchens, welchem das Diphtherietoxin subcutan eingespritzt worden war, enthielt keine Spuren von Toxin.

2. Obschon der Harn eines Hundes, welchem das Diphtherietoxin subcutan oder intravenös applicirt worden war, gewisse toxische Eigenschaften zu besitzen schien, liess sich jedoch speciell das Diphtherietoxin nicht in demselben nachweisen.

3. Normaler Kaninchen-, Hunde- und Katzenharn besitzt, mit Diphtherietoxin versetzt, nicht die Fähigkeit, letzteres zu zerstören, sondern schwächt dasselbe nur in geringem Grade ab.

4. Normaler Menschen- und Pferdeharn wirkt stark vernichtend auf das Diphtherietoxin ein.

5. Die dem Harne möglicherweise zukommende Eigenschaft, das Diphtherietoxin zu zerstören, ist durch Enzym- resp. Fermentwirkung bedingt.

Die Versuche, welche die Frage nach der Durchlässigkeit der Niere für Diphtherietoxin entscheiden sollten, ergaben negative Resultate.

Weiter konnte ermittelt werden, dass Pferdeblutserum das Diphtherietoxin sehr energisch zerstört, während hingegen Ziegen-, Kaninchen- und Katzenserum die oben erwähnte Eigenschaft kaum besitzen.

Endlich haben speciell daraufhin angestellte Versuche gezeigt, dass die Vernichtung des Toxins nicht im Moment des Zusammentreffens von diesem und der zerstörenden Substanz, sondern erst bei längerem Aufeinanderwirken, etwa nach 25 Minuten bis 2 Stunden langem Aufenthalt im Thermostaten vor sich geht.

Auf Grund aller hierher gehörigen Versuche ist anzunehmen, dass im Thierkörper Bedingungen zur Zerstörung des Diphtherietoxins gegeben sind. Beim Pferde geschieht dies im Blute, bei anderen Thieren dagegen in den inneren Organen. Das Toxin verschwindet bei der einen Thierreihe rascher, bei der anderen langsamer.

Entgegnung

von

N. Sieber.

Zeitschr. f. Hygiene und Infectionskrankh. **28**, 159.

Im ersten diesjährigen Hefte des XXVII. Bandes der „Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten" hat Herr Prof. Dr. Oscar Wyss in seiner Arbeit „Ueber eine Fischseuche durch Bacterium vulgare" die Vermuthung ausgesprochen, dass der von mir isolirte und beschriebene Bacillus piscicidus agilis [1]) mit dem von ihm anlässlich einer im Züricher See ausgebrochenen Fischseuche isolirten Bacillus proteus vulgaris identisch sein könnte. Auf Grund der von ihm vermutheten Identität des Bacillus piscicidus agilis mit dem von ihm aus den inficirten Fischen isolirten Proteus schlägt Prof. Dr. O. Wyss vor, auf die von mir isolirte Art des Bacillus piscicidus agilis zu verzichten und diesen Mikroorganismus dem Proteus id est Bacterium vulgare zu subsumiren.

Ich bin dadurch veranlasst, Folgendes mitzutheilen.

Als ich im Jahre 1894 mit der Untersuchung über die Fischerkrankung beschäftigt war, habe ich nach Unterscheidungsmerkmalen des von mir isolirten Bacillus gesucht, um ihn von den bekannten Bacterien zu differenziren. So verglich ich ihn unter Anderem auch mit den bekannten Proteusarten. Bei dieser vergleichenden Untersuchung der culturellen und morphologischen Eigenschaften ist die Verschiedenheit der beiden Arten ganz unzweideutig ausgefallen. Dem Bacillus piscicidus agilis fehlen zwei charakteristische Eigenschaften, welche dem Proteus vulgaris eigen sind und durch welche er sich hauptsächlich auszeichnet, nämlich: das Ausschwärmen der Colonien und der allgemein bekannte Polymorphismus in der Form und Grösse der einzelnen Individuen. Parallel und zu gleicher Zeit angelegte Plattenculturen haben uns überzeugt, dass der Bacillus piscicidus agilis unter keinen Umständen ausschwärmende Colonien giebt. Auch die Structur der Colonien der beiden Bacterienarten ist verschieden. Die Colonien des Bacillus piscicidus agilis sind klein, aber grosskörnig, von graubrauner Farbe, nie aber ist strahlige oder haarige Structur bei den Colonien zu beobachten. In dem Stadium der Gelatineverflüssigung sieht man an den Culturen eine Differenzirung in eine äussere, mehr durchsichtige, helle Zone mit scharf begrenztem peripherem Rand. Das Centrum der Colonie ist aber körnig und dunkelgrau. Morphologisch unterscheiden sich die beiden Arten dadurch, dass die Stäbchen des Proteus vulgaris, abgesehen von ihrer wechselnden Form und ihren Grössenverhältnissen, bedeutend dicker und plumper sind und lange Fäden bilden. Von dem allen ist in den gleich alten (zwei- bis viertägigen) Culturen beim Bacillus piscicidus agilis nichts zu beobachten. Wohl trifft man in den älteren Culturen, wie bei vielen anderen Bacterienarten, etwas abnorme, längere und dickere Exemplare, welche als Degenerationsformen aufzufassen sind.

---

[1]) Dieser Band S. 496.

Das Vermögen, die Gelatine zu verflüssigen, ist bei dem Bacillus piscicidus agilis im Vergleich zu dem Proteus, selbst für concentrirtere als 10proc. Gelatine und bei niedriger Temperatur, viel grösser. Auf Kartoffel giebt der Proteus vulgaris nie so dunkelbraune oder röthlich verfärbte Auflagerungen, wie dies bei dem Bacillus piscicidus ständig zu beobachten ist. Dies ist auch der Fall bei den älteren Agar-Agar-Culturen des Bacillus piscicidus, nie aber bei dem Proteus. Der Bacillus piscicidus agilis unterscheidet sich ferner vom Proteus noch durch sein Wachsthum bei niedrigen Temperaturen. Der Proteus wächst nicht unter 6 bis 8° über 0° und bei dieser Temperatur sehr schwach und kümmerlich, die Gelatine kaum oder nur wenig und unvollständig verflüssigend und ist vielleicht deshalb weniger pathogen. Der Bacillus piscicidus agilis wächst bei 0 bis 5° C. zwar etwas langsamer als bei 8 bis 10° C., verflüssigt aber die Gelatine und behält seine Virulenz.

Von 10 mit Proteus vulgaris bei 8 bis 10° C. gewachsener Cultur inficirten Fröschen starben nur zwei. Ein Frosch am 8., ein anderer am 11. Tage. Alle 10 Frösche dagegen, welche mit Bacillus piscicidus (zwischen 0 und 5° gewachsener Cultur) inficirt waren, starben innerhalb zwei bis drei Tagen. Die Kalt- oder Warmblüter, welche in Folge der Infection mit Bacillus piscicidus agilis starben, zeigten im Vergleich mit solchen, welche in Folge von Proteusinfection verendeten, viel stärker ausgesprochene Hyperämie und Hämorrhagien. Beim Oeffnen der Bauchhöhle fliesst aus dem Peritoneralraum ein blutig seröses Transsudat, bei den Thieren, welche mit Proteus inficirt waren, fand ich dagegen seröse, kaum roth gefärbte Flüssigkeit. Die Eingeweide, Leber, Milz u. s. w., sind viel stärker hyperämisch bei den mit Bacillus piscicidus als mit Proteus inficirten Thieren. Von fünf mit sechs Tage alter Gelatine-Cultur von Proteus vulgaris inficirten Fischen (drei Karpfen und zwei Weissfische) starben im Laufe von drei bis sechs Tagen zwei Karpfen und ein Weissfisch. Von der gleich alten Bouillon-Cultur von Proteus vulgaris starb von vier inficirten Karpfen nur einer nach acht Tagen. Alle zehn Fische dagegen, welche mit Bacillus piscicidus, sei es mit Bouillon- oder Gelatine-Culturen, inficirt waren, verendeten sämmtlich im Laufe der ersten drei Tage.

Man könnte einwenden, dass die zuletzt angeführten Differenzen nur auf die abgeschwächte Virulenz des Proteus zurückzuführen sind. Dem gegenüber will ich bemerken, dass nach dem Erscheinen der Arbeit von Prof. Dr. Wyss ich meine jetzt vier Jahre alten Culturen des Bacillus piscicidus agilis mit den Proteusculturen, deren Virulenz ich durch Thierpassagen verstärkte, verglichen und die obigen Differenzen alle von Neuem bestätigt gefunden habe. Die charakteristische Eigenschaft des Bacillus piscicidus agilis, bei Temperaturen wenig über 0° zu wachsen, ist wohl auch eine der Ursachen seiner grösseren Virulenz für die Kaltblüter.

Aus allem Vorangehenden ist es, denke ich, klar, dass der Bacillus piscicidus agilis und Bacterium proteus vulgare verschiedene Arten sind. Herr Professor Dr. Oscar Wyss, dem allem Anscheine nach meine Arbeit nur aus dem kurzen und unvollständigen Referate in Baumgarten's Jahresberichte bekannt war, hat meiner Ansicht nach ohne genügende Sachkenntniss sein Urtheil abgegeben.

1899

Ueber organische Synthesen mittelst Eisenchlorid

von

M. Nencki.

Zweite Mittheilung.

Ber. **32**, 2414. — Eingegangen am 12. August.

Vor zwei Jahren habe ich im Ber. **30**, 1766 ff.[1]) meine ersten Untersuchungen über diesen Gegenstand veröffentlicht. Seither habe ich trotz mancher Unterbrechungen durch Arbeiten auf ganz anderen Gebieten die Untersuchungen über Synthesen mittelst Eisenchlorid fortgesetzt, und bilden die erhaltenen Resultate den Gegenstand der nachfolgenden Mittheilungen meiner jungen Mitarbeiter, der Herren N. Meissel, A. Gurewitsch und L. Różycki. Mein Hauptinteresse war dabei auf die beiden Fragen gerichtet, erstens nach welchem chemischen Mechanismus die Synthesen mittelst Eisenchlorid bewirkt werden, und zweitens aufzuklären, ob und worin ein Unterschied in der Wirkung des Eisenchlorids und des ihm so nahestehenden Aluminiumchlorids besteht. Bezüglich der ersten Frage habe ich schon gelegentlich der Darstellung des Benzophenons aus Benzoylchlorid und Benzol mittelst Eisenchlorid beobachtet, dass, nachdem eine bestimmte Menge des Eisenchlorids in das Gemisch der beiden Substanzen eingetragen war, die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei erstarrte. Die mit Ligroin abgewaschenen und zwischen Fliesspapier abgepressten Krystalle waren eisenhaltig und zersetzten sich in Berührung mit Wasser unter Abscheidung öliger Tropfen, die nach einiger Zeit krystallinisch wurden. Eine genauere, von Herrn Meissel ausgeführte Untersuchung über die Bildung dieser Krystalle und ihre Zusammensetzung ergab nun Folgendes:

Zu einem Gemisch von 18 g Benzol und 32 g Benzoylchlorid wurde allmählich und in kleinen Portionen trockenes, sublimirtes Eisenchlorid zugesetzt. Die Flüssigkeit färbte sich anfangs roth, ohne merkliche Entwickelung von Salzsäure. Nachdem 7 g Eisenchlorid zugesetzt waren, erstarrte sie zu einer gelbbraunen, krystallinischen

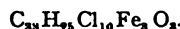
[1]) Dieser Band S. 589.

Masse. Die Krystalle wurden möglichst rasch von der Flüssigkeit durch Absaugen getrennt, gut mit Ligroin nachgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst und im Vacuum über Aetzkalk und Schwefelsäure getrocknet. Auch bei Anwendung von weniger Eisenchlorid erfolgt die Bildung dieser Krystalle, namentlich wenn die Flüssigkeit abgekühlt wird. Da die Krystalle stark hygroskopisch sind und an der Luft zerfliessen, ist es unbedingt nothwendig, bei ihrer Darstellung alle Feuchtigkeit auszuschliessen.

Die Elementaranalysen von Präparaten verschiedener Darstellung ergaben für diesen Körper folgende Zahlen:

	Gefunden			im Mittel
	I.	II.	III.	
C	40.42	40.74	40.85	40.67
H	3.08	3.11	3.21	3.13
Cl	35.45	36.04	36.06	35.85
Fe	17.02	16.97	17.11	17.03

Am besten entsprechen die erhaltenen Zahlen der Formel:

$$C_{33}H_{25}Cl_{10}Fe_3O_3.$$

Der Körper ist in Alkohol und Aether leicht löslich, weniger in Benzol, unlöslich in Ligroin. Nach mehrtägigem Liegen im Exsiccator zersetzt er sich unter Entwickelung von Chlorwasserstoff. In Berührung mit Wasser zersetzt er sich sofort unter Abscheidung öliger Tropfen, die nach einiger Zeit krystallinisch erstarren. Diese Krystalle sind, wie eine genauere Untersuchung ergab, ein Gemisch von Benzophenon und Benzoësäure. In der wässerigen Lösung findet sich Eisenchlorid.

Unter Berücksichtigung dieser Spaltungsproducte ist die obige complexe Formel leicht verständlich. Man kann sie nämlich auch in folgender Weise schreiben: $(C_6H_5COC_6H_5 . FeCl_3)_2 C_6H_5COCl . FeCl_3$. In der That stehen die für diese schwer zu reinigende und leicht sich zersetzende Substanz erhaltenen Zahlen der obigen Formel sehr nahe.

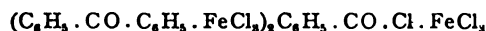
Es wurde im Mittel gefunden: C 40.67, H 3.13, Cl 35.85, Fe 17.03.
Berechnet für $(C_6H_5COC_6H_5 . FeCl_3)_2C_6H_5COCl . FeCl_3$:
C 39.92, H 2.52, Cl 35.79, Fe 16.93.

Diese Formel erklärt uns auch die Bildung des Benzophenons unter dem Einflusse von Eisenchlorid. In der ersten Phase der Reaction vereinigt sich das Eisenchlorid mit dem Benzoylchlorid zu der Verbindung: $C_6H_5COCl . FeCl_3$. Durch die Molekularvereinigung wird das Chlor des Benzoylchlorids besonders labil, tritt mit einem Wasserstoffatom des Kohlenwasserstoffs als Salzsäure heraus, und es resultirt die Verbindung des Benzophenons mit Eisenchlorid $= (C_6H_5 . CO . C_6H_5) FeCl_3$. Der schliesslich entstehende, krystallinisch ausgeschiedene Körper ist ein Doppelsalz der beiden Eisenchloridverbindungen, das durch Wasser in Benzophenon, Benzoësäure und Eisenchlorid zerlegt wird.

Die Entstehung des Benzophenons, respective anderer Ketone, unter dem Einflusse von Eisenchlorid lässt sich demnach folgendermaassen formuliren:

1. $R . COCl + FeCl_3 = R . CO . Cl . FeCl_3.$
2. $R . CO\ Cl . FeCl_3 + H\ C_6H_5 = R . CO . C_6H_5 . FeCl_3 + HCl.$
3. $2R . CO . C_6H_5 . FeCl_3 + R . CO . Cl . FeCl_3 = (R . CO . C_6H_5 . FeCl_3)_2 R . CO . Cl . FeCl_3.$

Bekanntlich wurde die richtige Erklärung der Friedel-Crafts'schen Reaction von G. Gustavson gegeben. Durch zahlreiche Untersuchungen dieses Autors sowie durch die späteren von Hamonet, Combes, Kondakow, Nef, Perrier u. A. ist es sicher festgestellt, dass bei allen organischen Synthesen mittelst Metallchloriden in erster Phase der Reaction das Metall-Chlorid resp. -Bromid mit der organischen Substanz eine additionelle Verbindung eingeht, wodurch erst die organische Componente reactionsfähig wird. Das, was Gustavson bezüglich der Rolle des Aluminiumchlorids behauptet hat, finden wir auch beim Eisenchlorid bestätigt. Wir sehen auch hier, dass, gleich wie Aluminiumchlorid, so auch das Eisenchlorid mit der aromatischen Componente eine molekulare Verbindung: $C_6H_5 . CO . Cl . FeCl_3$ bildet, und ebenfalls, dass das Eisenchlorid in Verbindung sowohl mit dem reagirenden Körper wie mit dem Reactionsproduct:

$$(C_6H_5 . CO . C_6H_5 . FeCl_3)_2 C_6H_5 . CO . Cl . FeCl_3$$

verbleibt.

Auch Hamonet[1]) erklärt die Bildung von Ketonsäureestern aus Fettsäurechloriden durch Bildung solcher Additionsproducte mit Eisenchlorid, und vor Kurzem haben die Herren R. S. Morrell und J. M. Crofts[2]) solche Additionsproducte von Eisenchlorid mit Ketonsäureestern als rothe, leicht zersetzliche Oele beschrieben.

Bezüglich der zweiten Frage, ob und welche Differenz zwischen der Wirkung des Eisenchlorids und Aluminiumchlorids besteht, möchte ich vorausschicken, dass in den Benzolkern des Phenols par excellence sowie dessen einatomiger Substitutionsproducte mittelst Eisenchlorid nur ein Säure- resp. Alkyl-Radical eingeführt werden kann. Die zwei- und dreiatomigen Phenole dagegen bilden stets Disubstitutionsproducte. Dies gilt auch vom Phloroglucin, das nach der von Herrn A. Ginsberg in meinem Laboratorium angestellten Untersuchung[3]) mit Acetylchlorid bei Gegenwart von Eisenchlorid ein Diketon von der Formel $C_6H(COCH_3)_2(OH)_3$ liefert. Da sowohl das Monoketon, $C_6H_2(COCH_3)(OH)_3$, wie das Diketon die gleiche procentische Zusammensetzung haben, so konnte nur durch die Bestimmung des Molekulargewichtes oder die Darstellung von Derivaten des Ketons die richtige Formel ermittelt werden. Herr Ginsberg hat zunächst aus dem käuflichen Phloroglucin nach dem Verfahren von Skraup[4]) Phloroglucincarbonsäure und daraus reines Phloroglucin bereitet. Dieses Phloroglucin wurde mit dem doppelten Gewicht Eisenchlorid und vier Aequivalenten Acetylchlorid auf dem Wasserbade erwärmt und nach dem Nachlassen der Salzsäureentwickelung das resultirende harzige Product zunächst mit viel Wasser abgewaschen, sodann mit heissem Wasser ausgekocht und der Rückstand mit Aether extrahirt. Aus dem ätherischen Auszuge wurden nach Verdunsten des Aethers in geringer Menge weisse Krystallnadeln erhalten, die wahrscheinlich ein Gemenge des Monoacetyl- und des Diacetylesters des C-Diacetophloroglucins sind. Das Molekulargewicht dieser durch Umkrystalli-

---

[1]) Bull. Soc. chim (3) **2**, 334 bis 347.

[2]) Chem. Centralbl. 1898, **69**, I. 939.

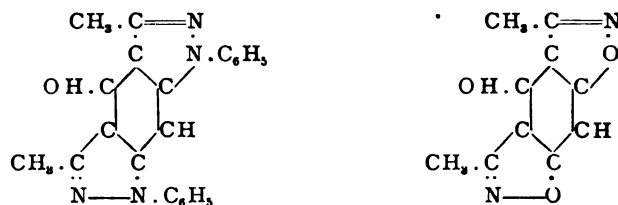
[3]) Die entsprechenden Untersuchungen sind im Журналъ Физико-Химическаго Общества 1897, **29**, 638 publicirt.

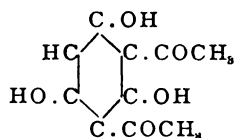
[4]) Monatsh. f. Chem. **10**, 724.

siren gereinigten Krystalle, nach Raoult bestimmt, wurde = 271 gefunden. Die Formel $C_{10}H_5O_3 . C_2H_3O$ verlangt das Molekulargewicht 252, die Formel $C_{10}H_8O_5 (C_2H_3O)_2$ = 294. Die Krystalle wurden durch 70 procentige Schwefelsäure verseift, wobei durch Verdünnen der schwefelsauren Lösung mit Wasser das C-Diacetophloroglucin in schwach gelblich gefärbten Nadeln ausfällt. Das Keton wurde durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigt und über Schwefelsäure getrocknet. Die Elementaranalyse und die Bestimmung des Molekulargewichtes in Phenol als Lösungsmittel ergaben folgende Zahlen:

$C_6H_4O_3(CO.CH_3)_2$.	Ber. C 57.14,	H 4.76.	Mol.-Gew. 210.
	Gef. C 56.94,	H 4.79.	„ „ 218.

C-Diacetophloroglucin reagirt mit je zwei Aequivalenten Phenylhydrazin resp. Hydroxylamin, bildet aber damit nicht ein Hydrazon oder Oxim, sondern, den Analysen und den Eigenschaften dieser Körper zu Folge, ein Pyrazolin- resp. ein Isoazolderivat:

```
         CH3.C===N                      CH3.C===N
             :   :                          :   :
             C   N.C6H5                     C   O
            / \ /                          / \ /
      OH.C     C                     OH.C     C
          |     |                        |     |
          C     CH                       C     CH
         / \   /                        / \   /
  CH3.C     C                    CH3.C     C
      :     :                        :     :
      N-----N.C6H5                   N-----O
```

Das C-Diacetophloroglucin ist in Alkohol und Aether leicht, in Wasser nur sehr wenig löslich. Die wässerige Lösung wird durch Eisenchlorid himbeerroth gefärbt. Bemerkenswerth ist es, dass dieses Keton ein beizenziehender Farbstoff ist. Mit Eisen gebeizte Baumwolle wird dadurch rosaroth gefärbt. Nach der Theorie von Kostanecki sind aromatische Verbindungen dann beizenziehende Farbstoffe, wenn sie ausser der chromogenen Gruppe noch zwei saure Gruppen in der o-Stellung enthalten. Da dem C-Diacetophloroglucin die Constitution

```
          C.OH
        /     \
     HC         C.COCH3
      |         |
   HO.C         C.OH
        \     /
         C.COCH3
```

zukommt, so ergiebt sich hieraus, dass auch das Acetyl als saure Gruppe functioniren kann.

Die Ausbeute an C-Diacetophloroglucin mittelst Eisenchlorid ist eine geringe und beträgt etwa 2 bis 3 Proc. vom Gewichte des angewandten Phloroglucins. Es ist daher interessant, dass nach einer Mittheilung meines verehrten Freundes, Professor Kostanecki in Bern, aus dem Phloroglucintrimethyläther beim Erhitzen mit Chloracetyl und Eisenchlorid in theoretischer Menge der Monoacetophloroglucintrimethyläther, $C_6H_2(OCH_3)_3 . COCH_3$, erhalten wird.

Eine Eigenthümlichkeit bei den Synthesen mittelst Eisenchlorid ist die, dass bei der Einwirkung organischer Chlorüre auf Phenole nicht nur der Wasserstoff im Benzolkern, sondern häufig auch der hydroxylische Wasserstoff substituirt wird. So

entsteht z. B. bei der Einwirkung von tert.-Butylchlorid auf Resorcin der Butyläther des Dibutylresorcins, $C_6H_2(C_4H_9)_2(OC_4H_9)OH$.

Im parallelen, mit $AlCl_3$ angestellten Versuch wurde nur das Dibutylresorcin erhalten. Hervorheben möchte ich noch, dass nur das tert.-Butylchlorid bei Gegenwart von Eisenchlorid mit Phenolen reagirt. Aus normalem und secundärem Butylchlorid konnte ich kein Substitutionsproduct erhalten.

In meiner ersten Mittheilung [1]) habe ich angegeben, dass nur halogensubstituirte Verbindungen zu Synthesen mittelst Eisenchlorid geeignet sind. Aus Säurehydraten und Phenolen konnte ich keine Oxyketone erhalten, wie dies z. B. aus Eisessig und Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol u. s. w. bei Anwendung von Chlorzink mir seiner Zeit gelungen ist. Als ich aber Essigsäureanhydrid mit Resorcin und Eisenchlorid erhitzte, erhielt ich ebenfalls das schon früher beschriebene Resodiacetophenon. Doch war die Ausbeute geringer, als bei Anwendung von Acetylchlorid.

Bei den Synthesen mittelst Eisenchlorid haben wir ausser seiner chlorirenden Wirkung, die noch kürzlich von V. Thomas [2]) studirt wurde, auch noch die oxydirende zu berücksichtigen. So entsteht aus Chloroform und Benzol unter dem Einflusse von Eisenchlorid ausser Triphenylmethan auch Triphenylcarbinol, aus Acetylchlorid und m-Xylol ausser Dimethylacetophenon die o-p-Xylylsäure, aus Butylchlorid und Hydrochinon das Dibutylchinon und nicht das Dibutylhydrochinon.

Synthesen einiger organischer Verbindungen mittelst Eisenchlorid

von

N. Meissel.

Ber. **32**, 2419. — Eingegangen am 12. August. — Inaug.-Dissert. Petersburg.

Die im Folgenden zu beschreibenden Versuche bilden die Fortsetzung der von Nencki und Stoeber ausgeführten und im Ber. **30**, 1768 [3]) beschriebenen Untersuchungen.

Die genannten Autoren haben unter anderem durch Einwirkung von Benzoyl- und Acetyl-Chlorid auf Benzol bei Gegenwart von Eisenchlorid das Benzophenon resp. Acetophenon erhalten. Ich habe einen ähnlichen Versuch mit m-Xylol angestellt und dabei, wie zu erwarten war, Dimethylacetophenon und Dimethylbenzophenon erhalten. Im ersten Versuche wurden 100 g reines, bei 137° siedendes m-Xylol und 160 g Acetylchlorid in einem geräumigen, mit Rückflusskühler versehenen Kolben mit 107 g sublimirtem Eisenchlorid allmählich versetzt. Das Eisenchlorid war in einer Glasbirne abgewogen, die mittelst eines Kautschukschlauches

---

[1]) Ber. **30**, 1766. — Dieser Band S. 589.

[2]) Compt. rend. **126**, 1211.

[3]) Dieser Band S. 591.

mit einem kurzen, in den Kolben mündenden Glasrohr verbunden war. Die Einwirkung findet schon bei gewöhnlicher Temperatur statt, wobei reichlich Salzsäure entweicht. Nach Zusatz des Eisenchlorids erwärmte ich den Kolben noch etwa 20 Minuten auf dem Wasserbade, worauf die syrupöse Flüssigkeit zunächst mit Wasser gewaschen, sodann im Dampfstrome destillirt wurde. Die mit den Wasserdämpfen übergegangene ölige Flüssigkeit wurde im Scheidetrichter getrennt, über Phosphorsäureanhydrid getrocknet und fractionirt destillirt. Die nach wiederholter Rectification erhaltene, zwischen 227 bis 228° siedende Fraction, eine farblose, ölige Flüssigkeit von angenehmem Geruch, spec. Gewicht bei 15° = 1.0121, ergab bei der Verbrennung mit der Formel des Dimethylacetophenons übereinstimmende Zahlen:

Ber. für $C_{10}H_{12}O$: 81.08 Proc. C und 8.11 Proc. H. Gef.: 80.76 Proc. C und 8.46 Proc. H, bezw. 80.92 Proc. C und 8.26 Proc. H.

In dem Destillationskolben hinterblieben nach dem Erkalten, ausser etwas harzigem Rückstand, weisse Krystallnadeln, die abfiltrirt, in verdünnter Sodalösung gelöst und mit Salzsäure gefällt wurden. Bei genauerer Untersuchung erwiesen sich die Krystalle als die o-p-Xylylsäure, welche schon früher von Kekulé und Hepp[1]), Jacobsen[2]), Ador und Meier[3]), Frey und Horowitz[4]) und Anderen untersucht wurde. Die Säure schmolz bei 122° und ergab bei der Verbrennung 71.8 Proc. C und 6.71 Proc. H. Die Formel $C_9H_{10}O_2$ verlangt 72.0 Proc. C und 6.66 Proc. H.

Das Dimethylacetophenon wurde aus m-Xylol und Acetylchlorid unter der Mitwirkung von $AlCl_3$ zuerst von A. Claus[5]) erhalten und zwar mit einer Ausbeute von über 70 Proc. Da ich bei meiner ersten Darstellung nur etwa 30 Proc. des Ketons erhielt, so habe ich den Versuch wiederholt und, um die Reaction zu mässigen, den Rath von Claus befolgend, Schwefelkohlenstoff als Verdünnungsmittel angewendet. In einen geräumigen, mit Rückflusskühler und Scheidetrichter versehenen Kolben wurden 100 g Eisenchlorid gebracht und mit einer Schicht von Schwefelkohlenstoff bedeckt. Sodann wurde ein Gemisch von 100 g m-Xylol und 75 g Acetylchlorid durch den Scheidetrichter in kleinen Portionen zugesetzt und tüchtig umgeschüttelt. Nach $^3/_4$ Stunden war alle Flüssigkeit eingetragen.

Man lässt den Kolben noch einige Zeit stehen; dann wird der Kolbeninhalt umgerührt, bis die lebhafte und gleichmässige Salzsäureentwickelung nachgelassen hat. Der Kolbeninhalt wird jetzt in Wasser gegossen, das abgeschiedene Oel Anfangs mit Wasser, dann mit verdünnter Sodalösung gewaschen und mit Aether extrahirt. Nach Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand mit Wasserdampf destillirt. Sobald der Schwefelkohlenstoff und unverändertes m-Xylol abgetrieben sind, wird die Destillation unterbrochen und der Kolbenrückstand getrocknet und rectificirt. Bei diesem modus procedendi erhielt ich gleich wie Claus mit $AlCl_3$ 75 Proc. des Ketons und keine Xylylsäure.

[1]) Ber. **7**, 1418.
[2]) Ebenda **11**, 18.
[3]) Ebenda **12**, 1968.
[4]) Journ. f. prakt. Chem. (2) **43**, 122. — Dieser Band S. 250.
[5]) Ber. **19**, 230.

Auf ganz gleiche Weise erhielt ich aus Benzoylchlorid und m-Xylol mittelst Eisenchlorid, und zwar mit einer Ausbeute von über 70 Proc., das Dimethylbenzophenon als eine farblose, ölige Flüssigkeit, die bei 362° siedet. Bei der Elementaranalyse fand ich darin 85.4 Proc. C und 6.95 Proc. H bezw. 85.61 Proc. C und 6.92 Proc. H. Die Formel $C_6H_5.CO.C_6H_3(CH_3)_2$ verlangt 85.71 Proc. C und 6.66 Proc. H. Auch die beiden von Smith[1]) untersuchten Oxime dieses Ketons habe ich rein dargestellt und analysirt. Das von mir erhaltene Dimethylbenzophenon ist identisch mit dem von Elbs[2]) und Söllscher[3]). Bezüglich der Bildung dieser Ketone und ihrer Ausbeute verhalten sich daher $AlCl_3$ und Eisenchlorid gleich.

Auf gleiche Weise, d. h. unter Anwendung von Schwefelkohlenstoff, erhielt ich aus Cymol (2 Gewichtstheile) und Acetylchlorid (1 Gewichtstheil) bei Gegenwart von Eisenchlorid (2 Gewichtstheile) das Cymolacetophenon $= CH_3.C_6H_3(COCH_3).CH(CH_3)_2$, als eine schwach gelbliche Flüssigkeit von angenehmem Geruch, spec. Gewicht bei 15° = 0.9715, Siedepunkt 240 bis 242°. Die alkoholische Lösung dieses Ketons giebt mit Eisenchlorid eine schön rothe Färbung.

Bei der Elementaranalyse habe ich erhalten: 81.49 Proc. C und 9.20 Proc. H, bezw. 81.66 Proc. C und 9.23 Proc. H. Berechnet für $C_{12}H_{16}O$: 81.81 Proc. C und 9.09 Proc. H. Die Ausbeute beträgt auch hier über 70 Proc. der theoretischen. Dieses Keton wurde zuerst von A. Claus und Cropp[4]) und später von A. Verley[5]) nach einem etwas abgeänderten Verfahren mittelst $AlCl_3$ dargestellt.

Bekanntlich wurde das tertiäre meta-Butyltoluol von Baur[6]) aus Toluol und tert.-Butylchlorid mittelst $AlCl_3$ erhalten; ausserdem erhielt er als Nebenproducte Butylxylol, Butylbenzol und Dibutylbenzol. Białobrzeski[7]), der im Laboratorium von Prof. Nencki diese Reaction mit Eisenchlorid wiederholte, erhielt nicht das meta-, sondern das tertiäre para-Butyltoluol, das bei energischem Nitriren nicht das Trinitro-, sondern nur das Dinitro-p-Butyltoluol lieferte. Białobrzeski erklärt dies nun dadurch, dass in seinem Butyltoluol die para-Stellung besetzt war. Es war nun von Interesse zu erfahren, wie sich das para-Xylol gegen tert.-Butylchlorid und Eisenchlorid verhalten werde. Zahlreiche Versuche, die ich deshalb angestellt habe, ergaben mir ein ganz negatives Resultat. Bei Zimmertemperatur findet keine Einwirkung statt; bei gelindem und kurz dauerndem Erwärmen erleidet das p-Xylol offenbar eine Zersetzung. Die abgeschiedene ölige Flüssigkeit hatte beim wiederholten Fractioniren keinen constanten Siedepunkt. Sie destillirte zwischen 175 bis 260° über. Dagegen gelang es mir, in das tert.-p-Butyltoluol das Acetyl einzuführen. Reines tert.-p-Butyltoluol reagirt mit Acetylchlorid und Eisenchlorid schon bei gewöhnlicher Temperatur. 5 Gewichtstheile des Kohlenwasserstoffes,

[1]) Ber. **24**, 4048.
[2]) Journ. f. prakt. Chem. (2) **35**, 469.
[3]) Ber. **15**, 1682.
[4]) Ebenda **19**, 232.
[5]) Bull. Soc. chim. (3), **17**, 175 (1897).
[6]) Ber. **24**, 2832 und **27**, 1606.
[7]) Ebenda **30**, 1773. — Dieser Band S. 595.

7 Gewichtstheile Acetylchlorid und 5 Gewichtstheile Eisenchlorid wurden unter Umschütteln eine Stunde zusammen stehen gelassen, wobei eine reichliche Entwickelung von Salzsäure stattfand. Nach den üblichen Operationen erhielt ich drei Fractionen, von welchen die erste zwischen 210 bis 225°, die zweite zwischen 225 bis 240° und die dritte zwischen 240 bis 245° überging. Die letzte Fraction war auch die grösste. Sie wurde noch einmal rectificirt und analysirt. Ich erhielt 81.92 Proc. C und 9.57 Proc. H, bzw. 81.97 Proc. C und 9.62 Proc. H. Die Formel $C_{13}H_{18}O$ verlangt 82.10 Proc. C und 9.47 Proc. H. Das Molekulargewicht dieses Ketons, nach Raoult, in Phenol als Lösungsmittel habe ich = 198 gefunden (ber. = 190).

Das tert.-Butylmethylacetophenon ist eine ölige, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit von angenehmem, an Dimethylacetophenon erinnerndem Geruch. Sein spec. Gewicht bei 15° war = 0.9541. Unlöslich in Wasser, löslich in den übrigen üblichen Solventien. Die alkoholische Lösung wird durch Eisenchlorid kirschroth gefärbt. Nach dem obigen Verfahren habe ich 72 Proc. der theoretischen Ausbeute erhalten. Operirt man mit kleinen Quantitäten des p-Butyltoluols — 25 bis 30 g —, so muss die Einwirkung nach einer Stunde, selbst wenn die Salzsäureentwickelung eine starke ist, unterbrochen werden. Bei Verarbeitung grösserer Mengen ist es zweckmässiger, unter Zusatz von Schwefelkohlenstoff zu arbeiten.

Im gleichen Laboratorium untersuchte Herr A. Ginsberg die Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf Benzol bei Gegenwart von Eisenchlorid[1]) und fand, dass bei Anwendung von drei Aequivalenten Benzol auf ein Aequivalent Tetrachlorkohlenstoff das Chlorid des Triphenylmethans entsteht, welches bei nachheriger Behandlung des Reactionsproductes mit Wasser in Triphenylcarbinol übergeht. Die Ausbeute an letzterem beträgt über 75 Proc. Dabei entsteht kein Triphenylmethan, wie dies bei Anwendung von Aluminiumchlorid der Fall ist, so dass zur Darstellung des Triphenylcarbinols das Eisenchlorid ganz besonders geeignet ist. Zu gleicher Zeit habe ich die Einwirkung von Chloroform und Eisenchlorid auf Benzol studirt. Meine Versuche ergaben, dass dabei neben geringen Mengen von Benzaldehyd stets ein Gemisch von Triphenylmethan und Triphenylcarbinol gebildet wird. Am zweckmässigsten erwies sich die Anwendung von 1 Gewichtstheil Chloroform und 1 Gewichtstheil Eisenchlorid auf 6 Gewichtstheile Benzol. Die Flüssigkeit wird auf dem Wasserbade gelinde erwärmt und das Eisenchlorid allmählich eingetragen. Das Reactionsproduct wird mit Wasser gewaschen und nach dem Verdunsten des Benzols auf dem Wasserbade im Dampfstrome destillirt. Der nicht flüchtige Kolbenrückstand wird in heissem Alkohol gelöst und der Alkohol verdunstet. Der syrupöse Rückstand erstarrt nach einiger Zeit, namentlich beim Rühren mit einem Glasstabe, zu einer weissen, krystallinischen Masse, die vorwiegend aus dem Gemisch der beiden oben genannten Körper besteht. In kaltem Alkohol ist das Triphenylmethan nur wenig löslich: durch Umkrystallisiren des Rohproductes daraus konnte ich leicht die beiden Körper trennen. Der in Alkohol leicht lösliche Körper schmolz bei 156 bis 158° und gab

[1]) Russisch l. c.

bei der Verbrennung 87.5 Proc. C und 6.43 Proc. H. Die Formel $C(OH)(C_6H_5)_3$ verlangt 87.69 Proc. C und 6.15 Proc. H. Die in Alkohol wenig löslichen Krystalle schmolzen bei 92° und enthielten 93.44 Proc. C und 6.83 Proc. H. Ber. für $CH(C_6H_5)_3$: C 93.44, H 6.56.

Ich untersuchte noch die Einwirkung von Chlorkohlensäureisoamylester auf Phenol bei Gegenwart von Eisenchlorid. In ein Gemisch von 22 g Chlorkohlensäureisoamylester (von Kahlbaum bezogen) und 15 g Phenol wurde Eisenchlorid langsam bei Zimmertemperatur in kleinen Portionen eingetragen, wobei eine nur ganz schwache Entwickelung von Salzsäure stattfand. Hierauf wurde der Kolben während einer Stunde zeitweise auf dem Wasserbade erwärmt und, sobald die Einwirkung heftig zu werden drohte, der Kolben abgekühlt. Das mit Wasser gewaschene Product wurde im Dampfstrome destillirt. Die mit den Wasserdämpfen übergegangene ölige Flüssigkeit erstarrte nach einiger Zeit zum grössten Theil krystallinisch. Durch Liegen auf Fliesspapier wurden die Krystalle vom beigemengten Oel befreit, dann aus Ligroin umkrystallisirt. Nach dem Trocknen schmolz die Substanz bei 93 bis 94° und ergab bei der Verbrennung 80.47 Proc. C und 9.83 Proc. H, bezw. 80.41 Proc. C und 9.86 Proc. H, woraus sich die Formel $C_{11}H_{16}O$ berechnet, welche 80.48 Proc. C und 9.75 Proc. H verlangt. Der Zusammensetzung und den Eigenschaften nach ist also dieser Körper das p-Isoamylphenol, das zuerst von Liebmann[1]) durch Erhitzen von Phenol und Isoamylalkohol mit Chlorzink auf 180° erhalten wurde. Die Reaction war also nach der Gleichung verlaufen:

$$ClCO_2C_5H_{11} + C_6H_5.OH = C_6H_4(OH)(C_5H_{11}) + HCl + CO_2.$$

Auf gleiche Weise erhielt ich aus Chlorkohlensäureäthylester und Phenol das p-Aethylphenol. Die Reaction ist hier sehr heftig und verläuft nicht so glatt, so dass die Ausbeute an reinem p-Aethylphenol nur eine geringe war.

Ueber die Einwirkung des tertiären Butylchlorids auf die zweiatomigen Phenole bei Gegenwart von Eisenchlorid

von

A. Gurewitsch.

Ber. 32, 2424. — Eingegangen am 12. August. — Inaug.-Dissert. Petersburg.

Anlässlich seiner Untersuchungen über Synthesen mittelst Eisenchlorid machte Herr Prof. Nencki die Beobachtung, dass das tertiäre Butylchlorid bei Zusatz von Eisenchlorid besonders leicht auf Phenole unter Bildung schön krystallisirender, neuer Verbindungen reagirt, während bei Anwendung von normalem oder secun-

[1]) Ber. 14, 1844.

därem Butylchlorid dies nicht der Fall ist. Von Prof. Nencki wurde mir die Untersuchung der aus tert.-Butylchlorid und den zweiatomigen Phenolen entstehenden Verbindungen übertragen, welche Untersuchung ich auch auf das Phenol und das tert.-Amylchlorid ausgedehnt habe.

Beim Erwärmen von Resorcin mit tert.-Butylchlorid und Eisenchlorid entsteht stets, selbst wenn die angewandten Componenten nicht im richtigen Molekularverhältnisse zu einander stehen, der Butyläther des Dibutylresorcins $= C_6H_2(C_4H_9)_2(OC_4H_9)OH$. Um eine gute Ausbeute zu erzielen, ist es nothwendig, auf 1 Molekül Resorcin 3 Moleküle des Butylchlorids anzuwenden. 11 Gewichtsthle. Resorcin werden mit 27.5 Gewichtsthln. Butylchlorid in einem mit einem Kühler versehenen Kolben vorgewärmt, der Flüssigkeit in zwei Absätzen 2 Gewichtsthle. Eisenchlorid zugesetzt und der Kolben etwa 20 Minuten lang, unter öfterem Umschütteln, auf dem warmen Wasserbade gehalten. Die Einwirkung ist ziemlich heftig, und es entweicht viel Salzsäure. Die dickliche Flüssigkeit wird hierauf in eine Schale mit Wasser ausgegossen, worin sie nach einiger Zeit zu einer röthlich gefärbten Krystallmasse erstarrt. Die Krystalle werden abfiltrirt, auf Fliesspapier getrocknet und aus verdünntem Alkohol unter Zusatz von Thierkohle umkrystallisirt. Beim langsamen Verdunsten der warmen alkoholischen Lösung scheiden sich weisse, schuppenförmige Krystalle ab, die, abfiltrirt und im Vacuum getrocknet, bei der Elementaranalyse 77.66 Proc. C und 10.27 Proc. H ergaben. Die obige Formel verlangt 77.70 Proc. C und 10.79 Proc. H. Der Körper ist in Wasser unlöslich, wenig löslich in Alkohol und Chloroform, leicht löslich in Aether, Ligroin, heissem Benzol und Eisessig. Sein Schmelzpunkt liegt bei 99°. Aus 11 g Resorcin und 27.5 g Butylchlorid erhielt ich 16 g dieses Productes. Mit 5 proc. Kalilösung gekocht, löst es sich allmählich darin auf. Beim Uebersättigen der filtrirten Lösung mit Salzsäure fällt daraus in weissen, dem Cholestrin ähnlichen Täfelchen das Dibutylresorcin aus. Die lufttrocknen Krystalle enthalten 2 Moleküle Krystallwasser, die sie im Exsiccator über Schwefelsäure leicht verlieren. Für die über Schwefelsäure getrocknete Substanz erhielt ich bei der Elementaranalyse 75.44 Proc. C und 9.96 Proc. H, bzw. 75.77 Proc. C und 9.77 Proc. H. Die Formel $(OH)_2C_6H_2(C_4H_9)_2$ verlangt C 75.67 und 9.90 Proc. H. Das tert.-Dibutylresorcin schmilzt bei 116 bis 118°, ist in Wasser unlöslich, leicht löslich in Essigsäure, Alkohol, Aether, Ligroin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und warmem Benzol. Durch Umkrystallisiren aus diesem letzteren Lösungsmittel wird es am besten rein und ohne Krystallwasser erhalten. Seine alkoholische Lösung wird durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Durch anderthalbstündiges Erwärmen mit 3 Thln. Essigsäureanhydrid und 2 Thln. entwässertem Natriumacetat auf dem Wasserbade habe ich das Diacetat dieses Phenols erhalten. Gefunden in dem über Schwefelsäure getrockneten Präparat 70.72 Proc. C und 8.54 Proc. H. Die Formel $(CH_3CO.O)_2C_6H_2(C_4H_9)_2$ verlangt 70.58 Proc. C und 8.50 Proc. H. Der Schmelzpunkt der Krystalle liegt bei 138°. In Wasser ist das Diacetat unlöslich, leicht löslich in den übrigen Lösungsmitteln.

Ich versuchte, das Dibutylresorcin zu nitriren, erhielt aber dabei nur das Trinitroresorcin vom Schmelzpunkt 175.5°. Um die äusserst heftige Reaction zu mässigen, werden ganz kleine Quantitäten, je 0.15 g des Dibutylresorcins, in Probir-

röhrchen in 2 ccm concentrirter Schwefelsäure gelöst, auf 0° abgekühlt und mit je 10 Tropfen Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1.4 versetzt. Nach 24 stündigem Stehen in der Kälte wurden die abgeschiedenen Krystalle mit Wasser abgewaschen, über Asbest filtrirt und zur Entfernung des Farbstoffes mit Benzin behandelt. Das Product wurde jetzt in Wasser gelöst und die Lösung langsam verdunstet, wobei sich hellgelbe Krystalle abschieden. Sie wurden abfiltrirt, getrocknet und analysirt und ergaben 29.69 Proc. C, 1.64 Proc. H und 16.76 Proc. N. Die Formel $(HO)_2C_6H(NO_2)_3$ verlangt 29.38 Proc. C, 1.22 Proc. H und 17.10 Proc. N.

Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob aus tert.-Butylchlorid und Resorcin unter dem Einflusse von $AlCl_3$ ebenfalls Dibutylresorcin entstehen würde. Zu dem Zwecke habe ich nach der Vorschrift von R. Escales[1]) frisches $AlCl_3$ bereitet und gefunden, dass auch durch Einwirkung von $AlCl_3$ das gleiche Dibutylresorcin entsteht. Um die beste Ausbeute zu erzielen, verfährt man auch hier wie bei der Darstellung mittelst Eisenchlorid, d. h. auf 11 Thle. Resorcin werden 27.5 Thle. tert.-Butylchlorid und 2 Thle. $AlCl_3$ verwendet. Die nach Wasserzusatz abgeschiedenen, grünlich gefärbten Krystalle wurden, um den Farbstoff zu entfernen, mit etwas kaltem Benzol gewaschen und aus heissem Benzol umkrystallisirt. Ueber Schwefelsäure getrocknet, ergab die Substanz bei der Verbrennung 75.2 Proc. C und 9.94 Proc. H. Berechnet für $C_6H_2(C_4H_9)_2(OH)_2$: 75.67 Proc. C und 9.90 Proc. H. Der Schmelzpunkt der Krystalle lag bei 116 bis 118°. Da auch die Krystallform derselben und die Löslichkeit in Benzol des mittelst Eisenchlorid und mittelst $AlCl_3$ erhaltenen Dibutylresorcins dieselbe war, so unterliegt es keinem Zweifel, dass in beiden Fällen das gleiche Product erhalten wurde. Die Löslichkeit der beiden Präparate in Benzol bestimmte ich nach der kürzlich publicirten, sehr bequemen Methode von Br. Pawlewski[2]). Nach dieser Bestimmung wird bei 23° 1 Thl. des mittelst Eisenchlorid dargestellten Dibutylresorcins gelöst von 36.97 Thln. Benzol und bei gleicher Temperatur 1 Thl. des mittelst $AlCl_3$ dargestellten von 37.11 Thln. Benzol.

Wie zu erwarten war, löste sich das mittelst $AlCl_3$ dargestellte Dibutylresorcin leicht in 5 proc. Kalilauge auf und wurde durch Salzsäure daraus gefällt. Die an der Luft getrockneten Krystalle verloren über Schwefelsäure 15.64 Proc. an Gewicht. Der für das Krystallwasser nach der Formel $C_6H_2(C_4H_9)_2(OH)_2 + 2H_2O$ berechnete Gewichtsverlust ist = 16.21 Proc.

Der einzige Unterschied in der Wirkung von Eisenchlorid und von $AlCl_3$ besteht also darin, dass im ersten Falle der Butyläther des Dibutylresorcins, im zweiten direct das Dibutylresorcin erhalten wird.

Auf ähnliche Weise wurde aus dem tertiären Amylchlorid und Resorcin das tert.-Diamylresorcin erhalten. Die Reinigung des Körpers ist jedoch ziemlich schwierig, da er leicht verharzt. Am zweckmässigsten werden auf 11 g Resorcin 32 g Amylchlorid und 3 g Eisenchlorid genommen. Nach Zusatz des letzteren wird die Mischung 5 Minuten lang direct auf freiem Feuer erwärmt und alle 15 Secunden für einen Augenblick vom Feuer entfernt. Die Flüssigkeit färbt sich Anfangs gelb,

[1]) Ber. **30**, 1314.
[2]) Ebenda **32**, 1040.

sodann rosa und schliesslich kirschroth. Das Reactionsproduct wird mit Wasser ausgeschüttelt und durch einen Luftstrom das unveränderte Amylchlorid entfernt. Die harzige Masse wurde in heissem Benzol gelöst und mit Thierkohle geschüttelt. Nach Verdunsten des Benzols unter Zusatz von Wasser hinterblieb ein wachsähnlicher, darauf schwimmender Körper, der sich in starker Essigsäure löste und daraus durch Wasserzusatz in nadelförmigen Krystallen abgeschieden wurde, die, im Vacuum getrocknet, bei der Verbrennung 76.84 Proc. C und 10.54 Proc. H bzw. 76.50 Proc. C und 10.46 Proc. H ergaben. Ber. für $C_6H_2(C_5H_{11})_2(OH)_2$: 76.80 Proc. C und 10.40 Proc. H. Das Diamylresorcin schmilzt bei 67°, ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Aether, Eisessig und heissem Benzol. Die Lösungen werden durch Eisenchlorid nicht gefärbt. In Alkalien löst es sich auf und wird durch Säuren unverändert gefällt. Mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat giebt es ein krystallinisches Diacetat, das bei 87 bis 88° schmilzt. Gefunden: 71.59 Proc. C und 8.99 Proc. H, ber. für $C_6H_2(C_5H_{11})_2(O.COCH_3)_2$: 71.88 Proc. C und 8.98 Proc. H.

Die Ausbeute an Diamylresorcin ist wegen der umständlichen Reinigung nicht gross. Aus 11 g Resorcin wurden nur 2 g dieser Verbindung erhalten.

Brenzcatechin giebt mit tertiärem Butylchlorid unter dem Einflusse von Eisenchlorid ebenfalls ein Dibutylderivat. 11 g Brenzcatechin wurden unter Erwärmen in 18 g tert.-Butylchlorid gelöst und nach dem Erkalten 2.5 g Eisenchlorid hinzugefügt. Die Lösung wurde etwa sechs Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und nach vollendeter Einwirkung in Alkohol aufgenommen und mit Thierkohle gekocht. Aus dem Filtrate wurden durch Wasser braune, nadelförmige Krystalle abgeschieden, die aus Benzol umkrystallisirt wurden. Ich erhielt so goldgelbe Krystalle, die, über Schwefelsäure getrocknet, bei 85 bis 86° schmolzen und bei der Analyse 75.76 Proc. C und 9.76 Proc. H ergaben. Die Formel $C_6H_2(C_4H_9)_2(OH)_2$ verlangt 75.67 Proc. C und 9.90 Proc. H. Der Körper ist in Wasser unlöslich, leicht löslich in den übrigen Lösungsmitteln. Die Lösungen werden durch Eisenchlorid dunkelgrün gefärbt. Um mich zu überzeugen, dass der Körper nicht ein Dibutyläther des Brenzcatechins ist, habe ich ihn unter Luftausschluss in 5 proc. alkoholischer Kalilauge gelöst und eine Stunde lang auf dem Wasserbade im Wasserstoffstrome erhitzt. Hierauf wurde die Lösung, ebenfalls unter Luftausschluss, mit Salzsäure übersättigt, durch Wasserzusatz gefällt und der abgeschiedene Körper aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt. Die erhaltenen, dunkelgelb gefärbten Krystalle schmolzen, über Schwefelsäure getrocknet, wieder bei 85 bis 86° und gaben bei der Verbrennung 75.77 Proc. C und 9.63 Proc. H.

Hydrochinon wird bei dieser Reaction zu Chinon oxydirt und es wurde Dibutylchinon erhalten, obgleich das Gemisch gar nicht erwärmt wurde. Ich liess 11 g Hydrochinon, 18 g tert.-Butylchlorid mit 2.5 g Eisenchlorid 10 Minuten bei Zimmertemperatur unter Umschütteln stehen und fällte hierauf mit Wasser. Das abgeschiedene Product wurde zweimal aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, über Schwefelsäure getrocknet und analysirt. Ich erhielt 76.50 Proc. C und 9.29 Proc. H. Die Formel $C_6H_2(C_4H_9)_2O_2$ verlangt 76.36 Proc. C und 9.09 Proc. H. Der Schmelzpunkt der Substanz liegt bei 150 bis 151°. Die Krystalle des Dibutylchinons

sind unlöslich in Wasser, schwer löslich in kaltem Alkohol, leicht löslich in heissem, ebenso in Eisessig. In Aether, Benzol, Ligroin und Chloroform sind sie leicht löslich. Die Lösungen werden durch Eisenchlorid nicht gefärbt. Durch vierstündiges Erwärmen mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung auf dem Wasserbade wurde daraus ein in hellbraunen Krystallen sich abscheidendes Phenylhydrazon, das bei 212° schmilzt, erhalten. Aus Benzol umkrystallisirt und über Schwefelsäure getrocknet, ergab die Substanz 9.18 Proc. N. Ber. für $C_6H_2(C_4H_9)_2(O):N.NH.C_6H_5$: 9.03 Proc. N.

Schliesslich möchte ich noch erwähnen, dass aus Phenol und tertiärem Butylchlorid bei Gegenwart von Eisenchlorid in ganz glatter Reaction stets das Monobutylphenol = $C_6H_4(C_4H_9)OH$, selbst wenn Butylchlorid im Ueberschusse vorhanden, entsteht. Dieser schön krystallisirende Körper schmilzt bei 97.5° und ist identisch mit dem zuerst von Liebmann[1]) aus Phenol und Iso-Butylalkohol durch Erhitzen mit Chlorzink erhaltenen Butylphenol. Nach einem im hiesigen Laboratorium von Herrn L. Różycki angestellten Versuche entsteht in ebenfalls ganz glatter Reaction bei der Einwirkung von Eisenchlorid auf tertiäres Amylchlorid und Phenol das bei 93° schmelzende p-Amylphenol, das ebenfalls mit dem von Liebmann[2]) aus Gährungsamylalkohol und Phenol mittelst Chlorzink dargestellten identisch ist. Dass bei der Liebmann'schen Synthese die Isogruppe in die tertiäre übergeht, darauf haben schon Seńkowski[3]), sowie Anschütz und Beckerhoff[4]) hingewiesen.

Ueber das tert.-Dibutylpyrogallol

von

L. Różycki.

Ber. 32, 2428. — Eingegangen am 12. August.

Nach den im Laboratorium von Herrn Prof. Nencki ausgeführten Untersuchungen gaben die einatomigen Phenole bei den Synthesen mittelst Eisenchlorid Monosubstitutionsproducte, die zwei- und dreiatomigen Phenole dagegen Disubstitutionsproducte. Aus Pyrogallol und Phloroglucin wurden die entsprechenden Diacetoketone erhalten. Es war nun von Interesse, zu ermitteln, ob bei der Einwirkung eines Alkylchlorids auf ein dreiatomiges Phenol ebenfalls ein Disubstitutionsproduct oder vielleicht ein Trisubstitutionsproduct entstehen würde. Ich wählte für diesen Versuch das tert.-Butylchlorid, von dessen grosser Reactionsfähigkeit wir uns mehrfach überzeugt haben.

12 g Pyrogallol wurden in einem mit Rückflusskühler verbundenen Kolben in 37 g tert.-Butylchlorid in der Wärme gelöst und mit 2 g Eisenchlorid versetzt. Die

[1]) Ber. **14**, 1842.
[2]) Ebenda **14**, 1844 und **15**, 151 und 547.
[3]) Ebenda **24**, 2974.
[4]) Ebenda **28**, 407.

Reaction ist eine recht heftige; es entweicht viel Salzsäure, und es ist nothwendig, von Zeit zu Zeit den Kolben vom Wasserbade zu entfernen und tüchtig umzuschütteln. Als nach 35 Minuten eine herausgenommene Probe nach Wasserzusatz krystallinisch erstarrte, wurde der Kolbeninhalt in viel Wasser ausgegossen und auf 0^0 abgekühlt. Nach mehrstündigem Stehen erstarrte das Product krystallinisch; es wurde abfiltrirt und gut ausgewaschen. Die Reinigung des Productes geschieht am besten so, dass die dunkelgefärbten Krystalle in Benzol gelöst werden und die Benzollösung mit Wasser tüchtig durchgeschüttelt wird. In der wässerigen Schicht bilden sich schon weniger gefärbte Krystalle; sie wurden von der Benzollösung getrennt, die Krystalle abfiltrirt und die Benzollösung von Neuem mit Wasser geschüttelt. Durch mehrfache Wiederholung dieser Operation konnte ein grosser Theil des krystallinischen Productes der Benzollösung entzogen werden. Die erhaltenen, zwischen Fliesspapier getrockneten Krystalle wurden, da sie noch etwas gefärbt waren, noch zweimal aus Ligroin, unter Zusatz von Thierkohle, umkrystallisirt. Ich erhielt so schneeweisse Krystallnadeln, in Wasser nur sehr wenig löslich, leicht löslich in den übrigen Lösungsmitteln. Die Analysen der über Schwefelsäure getrockneten Substanz zeigten, dass nicht Tri-, sondern Dibutylpyrogallol entstanden war. Ich erhielt 70.11 Proc. C und 9.45 Proc. H, bezw. 70.2 Proc. C und 9.54 Proc. H. Ber. für $C_6H(C_4H_9)_2(OH)_3$ 70.58 Proc. C und 9.24 Proc. H. 1 g des Dibutylpyrogallols wurde in 2 g Essigsäureanhydrid gelöst und mit 1 g entwässertem Natriumacetat versetzt. Nach einer halben Minute erwärmte sich die Flüssigkeit stark und erstarrte sofort krystallinisch. Die erhaltenen Krystalle wurden mit Wasser gewaschen, zweimal aus Alkohol umkrystallisirt, über Schwefelsäure getrocknet und analysirt. Der Analyse zu Folge sind alle drei Hydroxylwasserstoffe durch Acetyl ersetzt worden. Gefunden 65.2 Proc. C und 8.1 Proc. H. Ber. für $C_6H(C_4H_9)_2(O.COCH_3)_3$ 65.9 Proc. C und 7.7 Proc. H.

Das Dibutylpyrogallol schmilzt bei 119°, sein Triacetylester bei 163°.

Ueber das Verhalten des Benzoyl- und des Calciumsuperoxyds im Verdauungscanal des Menschen und des Hundes

von

M. Nencki und **J. Zaleski.**

Zeitschr. f. physiolog. Chem. **27**, 487. Der Redaction zugegangen am 29. Mai 1899. — Gazeta Lekarska (1900), No. 3 u. 4. — Русскій Архивъ Патологіи u. s. w. **8**, 51.

Seit der Erkenntniss, dass ein nicht unerheblicher Theil der Nahrungsstoffe in unserem Darmcanal nicht durch die Verdauungssäfte, sondern durch die im Darme befindlichen Mikroben zersetzt wird, und seitdem wir gezeigt haben, welche Spaltungsproducte im Darme gerade für die Darmfäulniss bezw. die Gährung der Kohle-

ıydrate im Gegensatz zu den Verdauungsproducten charakteristisch sind, wurden vielfache Versuche angestellt, um diese Darmfäulniss durch passende Darmantiseptica zu beeinflussen bezw. zu beschränken.

Die ältesten rein empirischen, d. h. ohne Kenntniss der Rolle der Mikroben im Darmrohr angewandten Darmdesinficientia sind die Abführmittel, und bis auf den heutigen Tag sind bei Störungen im Verdauungstractus Oleum ricini oder Calomel die gebräuchlichsten Heilmittel. Freilich ist eine völlige Darmdesinfection dadurch nicht erreichbar und ihre Anwendung auf die Dauer nicht zulässig. Nachdem der Eine von uns gefunden hat, dass der pankreatische Saft nicht allein die Fette, sondern auch Säureester der aromatischen Reihe in ihre Componenten zerlegt, wurde es möglich, starke Desinficientia in grösserer Menge in den Darm, ohne Schaden für den Organismus, einzuführen. Dem zuerst für diesen Zweck empfohlenen Phenolester der Salicylsäure, dem sogenannten Salol, folgte eine Reihe ähnlich zusammengesetzter Stoffe, und obgleich sowohl das Salol par excellence, als auch manche in diese Gruppe gehörige Verbindung als werthvolle Arzneimittel eine ausgedehnte Anwendung in der ärztlichen Praxis finden, so ist damit der ideale Zweck, die parasitische Zersetzung des Speisebreies im Darme, je nach dem Wunsche des Arztes einzuschränken oder gänzlich aufzuheben, noch lange nicht erreicht und voraussichtlich nicht so bald zu erreichen.

Die Gründe dafür sind mannigfach. Wir führen mit Speise, Getränk und der verschluckten Luft täglich von Neuem frische Mikroben, meistens von unbekannten Eigenschaften, dem Verdauungscanal zu. Dann ist es nicht leicht, ein Antisepticum zu finden, das ohne Schaden für die Darmschleimhaut bezw. für den ganzen Organismus die im Darmlumen befindlichen Mikroben vernichten oder wenigstens ihre Lebensthätigkeit aufheben würde. Unzweifelhaft verhält sich die Darmschleimhaut selbst gegenüber diesen Parasiten und ihren Stoffwechselproducten nicht indifferent und besitzt Mittel und Wege, um ihre schädliche Einwirkung möglichst einzuschränken. Es ist ja bekannt, dass die meisten Toxine vom unverletzten Darme aus unwirksam sind, und wir [1]) haben noch vor Kurzem gezeigt, dass das Diphtherie- und das Tetanotoxin durch den Magensaft, namentlich aber durch den pankreatischen Saft und Galle, entgiftet werden; aber die Erforschung der Vertheidigungsmittel des Organismus gegen die Darmmikroben hat erst begonnen und ist daher noch recht lückenhaft. Auch über den Umfang und die Intensität der Gährungsvorgänge in unserem Verdauungscanal, ihre Abhängigkeit von der Nahrung und verschiedenen anderen Factoren, wissen wir ebenfalls sehr wenig. Es ist daher als ein Fortschritt in technischer Hinsicht zu begrüssen, dass es Prof. Sahli in Bern gelungen ist, mittelst seiner Glutoidkapseln verschiedene Stoffe in den Darm einzuführen, ohne dass sie vorher im Magen zur Wirkung gelangen bezw. verändert werden. Da einzelne Eiweissspaltungsproducte der aromatischen Reihe, wie die Oxysäuren, das Indol, Skatol, Phenol, Kresol, im Darme nur durch die Thätigkeit der Bacterien entstehen und, insofern sie resorbirt werden, als Aetherschwefelsäuren in den Harn übergehen, so hat Baumann vorgeschlagen, die Intensität der Eiweissfäulniss im

[1]) Centralbl. f. Bacteriologie **23**, 840. — Dieser Band S. 619.

Darme aus den vermehrten Aetherschwefelsäuren im Harne zu bemessen. Dieser Maassstab kann nur ein approximativer sein, da ein unbestimmter, aber nicht unerheblicher Theil dieser aromatischen Producte nicht als Aetherschwefelsäure, sondern mit Glycuronsäure gepaart in den Harn übergeht. Mehr geeignet dafür ist die Bestimmung des Harnindicans, da sowohl die aus dem resorbirten Indol entstandene Indoxylätherschwefelsäure, wie die Indoxylglycuronsäure nach dem Verfahren von Obermeyer durch Zusatz rauchender Salzsäure und Eisenchlorid zum Harn gespalten und in Indigo übergeführt werden. Nicht alle Spaltpilze bilden aber aus Eiweiss Indol und die Thätigkeit der meisten Mikroben im Darme entzieht sich jeder genaueren Bestimmung.

Vor ungefähr 10 Jahren wurde von Macfadyen, Nencki und Sieber[1]) eine Untersuchung über die chemischen Vorgänge im menschlichen Dünndarm veröffentlicht, welche später noch von Dr. Jakowski[2]) in Warschau fortgesetzt wurde. Durch diese Arbeiten wurde festgestellt, dass die Gährungsvorgänge im menschlichen Verdauungscanal auch räumlich sich verschiedenartig gestalten. Im Magen sind sie unter normalen Verhältnissen durch die Magensaftsäure derart behindert, dass sie schwerlich irgend welche Bedeutung für den Organismus haben. Im Dünndarme, wo die Reaction des Speisebreies bis in den untersten Theil des Ileum auf Lackmus schwach sauer war, sind es hauptsächlich die Kohlehydrate, die durch die Mikroben zerlegt werden. Nach unseren Bestimmungen[3]) enthält der Dünndarminhalt von Hunden durchschnittlich nur 30 mg Ammoniak in 100 g Flüssigkeit. Nach den Amidosäuren der Fettreihe haben wir vergeblich den Dünndarminhalt unserer Patientin untersucht. Indol, Skatol, Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan haben wir nur in den Contentis aus dem unteren Theil des Ileum, und auch da nicht constant, gefunden. Die Destillate des Dünndarminhaltes gaben uns mit Brom kein Tribromphenol, folglich war in dem Darminhalt weder Phenol noch p-Kresol vorhanden. Ob das Pentamethylendiamin, das von Werigo[4]) als Product der pankreatischen Eiweissverdauung und von Jakowski im Dünndarminhalt seiner Patientin gefunden wurde, ein specifisches Product der Eiweissfäulniss oder der pankreatischen Verdauung ist, können wir nicht mit Bestimmtheit sagen.

Ausser Albumosen und Peptonen haben wir daher die specifischen Fäulnissproducte des Eiweisses im Dünndarminhalt des Menschen bis zur Ileocoecalklappe manchmal gar nicht, in anderen Fällen nur in geringer Menge gefunden. Anders war es mit den Umwandlungsproducten des Zuckers, wovon wir in erheblichen Mengen die isomeren Milchsäuren, flüchtige Fettsäuren, vorwiegend aus Essigsäure bestehend, vorfanden. Ob der auch bei absoluter Abstinenz von Alkohol in der Nahrung in geringer Menge im Dünndarminhalte von uns und Jakowski gefundene Aethylalkohol durch Spaltpilze oder Hefen, welche letzteren constant im Dünndarminhalt enthalten sind, gebildet wird, ist schwer zu entscheiden und von nebensächlicher

[1]) Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmacol. **28**, 311. — Dieser Band S. 183.

[2]) Archives des sciences biologiques de l'institut de médecine expérimentale à St. Petersbourg, **1**, 539. — Dieser Band S. 264.

[3]) Vergl. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **37**, 37. — Dieser Band S. 535.

[4]) Pflüger's Archiv, **51**, 362 (1892). — Dieser Band S. 267.

Bedeutung. So viel ist sicher, dass im menschlichen Dünndarm die Producte der Kohlehydratgährung bei Weitem grösser sind, als wie die der Eiweissgährung. Der Hauptsitz der Eiweissgährung ist der menschliche Dickdarm und reagirt hier auf Lackmus bei gemischter Kost nicht allein die Darmschleimhaut, sondern auch der Darminhalt alkalisch [1]).

Es ist seit Langem durch die Analysen der Gase des Verdauungstractus von Planer, Ruge, K. B. Hofmann und Tappeiner bekannt, dass nur die Magengase etwas Sauerstoff, von der verschluckten Luft herrührend, enthalten. Die Dünndarmgase bestehen nur aus Kohlensäure, Wasserstoff und Stickstoff. In den Dickdarmgasen finden wir ausser diesen noch Methan, Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan. Die Kohlensäure des Dünndarms hat einen doppelten Ursprung.

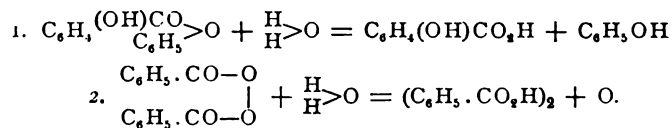
---

[1]) Herr Prof. Dr. M. Matthes und Dr. E. Marquardsen (Ueber die Reaction des Dünndarminhalts, von M. Matthes und E. Marquardsen, Separatabdruck aus den Verhandlungen des XVI. Congresses für innere Medicin), die hauptsächlich an Hunden experimentirten, kommen zu dem Resultat, dass der Dünndarminhalt eigentlich alkalisch reagire, da er nur auf Indicatoren, die auf Kohlensäure empfindlich sind, saure Reaction zeige. Derselbe Darminhalt, der gegen Rosolsäure, Phenolphtalein und Curcuma sauer reagirt, reagirt auf Cochenille, Methylorange und rothes Lackmoid stets und zwar stark alkalisch. Wir sahen uns deshalb veranlasst, die Reaction des Dünndarminhalts bei Hunden nachzuprüfen. Das Ergebniss unserer Versuche war folgendes: Ein grosser gesunder Hund wurde um 9 Uhr Morgens mit Hafergrütze und Fleisch bis zur Sättigung gefüttert, um 2 Uhr Mittags, also 5 Stunden später, durch Verblutung aus der Art. crur. getödtet und der Darminhalt sofort untersucht. Magen, Dünndarm und Dickdarm sind mit Speisebrei gefüllt. Mageninhalt reagirt auf Lackmus, Lackmoid und Methylorange sauer, desgleichen der Inhalt des Duodenum. Im oberen Dritttheil des Dünndarms ist die Reaction auf diese Indicatoren die gleiche, jedoch schwächer. In der Mitte des Dünndarms ist die Reaction auf Lackmus, Lackmoid, Methylorange, Congo und Phenolphtalein schwach, aber deutlich alkalisch. Von da abwärts ist die Reaction stärker alkalisch. Dickdarminhalt stark alkalisch. Bei zwei anderen Hunden, die ebenfalls mit Hafergrütze und Fleisch gefüttert und 7 Stunden später durch Verblutung getödtet wurden, war der Befund identisch, und zwar wie folgt: Im Magen viel Speisebrei von saurer Reaction. Im Duodenum reagirt der Speisebrei auf Lackmus, Lackmoid, Methylorange, Congo und Phenolphtalein schwach, aber deutlich alkalisch. In der Mitte des Dünndarms und abwärts war die Reaction des Speisebreies stark alkalisch. Ebenso reagirte der Dickdarminhalt. Der Dünndarminhalt war halbflüssig, übelriechend. Der Dickdarminhalt consistent, stark stinkend. — Dieser Befund ist also verschieden von dem bei den Patientinnen mit Darmfistel von uns und Dr. Jakowski. Bei diesen Frauen reagirte der Dünndarminhalt auf Lackmus nicht etwa amphoter (weinroth), sondern deutlich roth, wie dies nur durch verdünnte Mineral- oder organische Säuren bewirkt wird. Bei den zwei letzten Hunden reagirte der Inhalt schon im oberen Theil des Dünndarms auf Phenolphtalein alkalisch. Wir halten unsere Angabe, dass bei unseren Patientinnen die saure Reaction nicht auf Rechnung der Kohlensäure, sondern der im Dünndarminhalt enthaltenen freien Fettsäuren zurückzuführen ist, vollkommen aufrecht. Die Angabe von Matthes und Marquardsen, dass die Reaction des Dünndarminhalts als eine ziemlich constante bezeichnet werden muss, ist nach unseren Befunden irrthümlich und schwankt offenbar je nach der Thierspecies, der Zeit, wann die Prüfung vorgenommen wurde u. s. w., innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Die Reaction kann schon vom Duodenum bis hinunter zum Rectum sowohl auf Phenolphtalein wie auf Methylorange alkalisch sein (Hunde) und in anderen Fällen (wie bei unseren Patientinnen) reagirt der Dünndarminhalt bis zur Ileocoecalklappe, in Folge seines Gehaltes an freien organischen Säuren, sauer.

Sie entsteht einerseits durch die Einwirkung der Salzsäure, der Milchsäuren, der Bernsteinsäure und der Fettsäuren des Speisebreies auf die alkalischen Verdauungssäfte; andererseits entsteht sie, gleich wie der Wasserstoff, als Gährungsproduct der Kohlehydrate im Dünndarm.

Die Gährungen im Darme verlaufen also ganz ohne Sauerstoff, und die darin wirksamen Mikroben sind entweder facultative oder obligate Anaërobien. Für die Erforschung der Gährungsvorgänge im Darm ist es daher von besonderem Interesse, zu erfahren, wie sich dieselben gestalten werden, wenn im Darmlumen freier Sauerstoff vorhanden sein wird. Das Problem, im Darme freien Sauerstoff zu haben, war nicht ganz leicht zu realisiren. Directe Einführung von Sauerstoff in den Darm ist aus verschiedenen Gründen nicht zulässig. Am zweckmässigsten schien es uns, in den Darm eine Substanz einzuführen, die darin als Sauerstoffentwickler functioniren würde. Folgende Ueberlegung, wobei wir wieder an den pankreatischen Saft appellirten, hat uns auch zur Lösung des Problems, wenn auch nur im Principe, geführt. Schon im Jahre 1863 hat Brodie organische Superoxyde beschrieben, die er durch Einwirkung von Säurechloriden auf Baryumsuperoxyd dargestellt hat. Vor Kurzem haben die Herren Pechmann und Vanino[1]) neue Beobachtungen über diese Körper veröffentlicht. Bekanntlich werden durch Alkalien oder den pankreatischen Saft Säureester in ihre Componenten zerlegt. So zerfällt beispielsweise das Salol in Salicylsäure und Phenol. Nun können die organischen Superoxyde aufgefasst werden als Säureester des Wasserstoffsuperoxyds, und thatsächlich zerfällt z. B. Benzoylsuperoxyd, mit Alkali erhitzt, in Benzoësäure und Sauerstoff. Folgende Gleichungen veranschaulichen die Analogie der beiden Processe:

$$1.\quad C_6H_4{}^{(OH)CO}_{C_6H_5}{>}O + {}^{H}_{H}{>}O = C_6H_4(OH)CO_2H + C_6H_5OH$$

$$2.\quad \begin{matrix} C_6H_5.CO-O \\ | \\ C_6H_5.CO-O \end{matrix} + {}^{H}_{H}{>}O = (C_6H_5.CO_2H)_2 + O.$$

Wenn Benzoylsuperoxyd wirklich im Sinne der obigen Gleichung im Darme zerfällt, so muss das verfütterte Benzoylsuperoxyd in den Harn als Benzoësäure bezw. Hippursäure übergehen, und aus der Menge der erhaltenen Hippursäure könnte man berechnen, wie viel Sauerstoff im Darm frei wurde. Die hierauf bezüglichen Versuche, sowie die späteren mit Calciumsuperoxyd haben wir gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Karużas[2]) ausgeführt und zunächst unsere Voraussetzung für kleinere Dosen des Benzoylsuperoxyds bestätigt gefunden.

Das Benzoylsuperoxyd ist ein weisser, krystallinischer Körper, unlöslich in Wasser, schwer löslich in heissem Alkohol. Er schmilzt bei 103 bis 104°. Auf Platinblech trocken erhitzt verpufft er. Brodie, wie oben erwähnt, erhielt ihn zuerst durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf Baryumsuperoxyd. Pechmann und Vanino haben zu seiner Darstellung Benzoylchlorid auf wässeriges Wasserstoffsuperoxyd und Natronlauge einwirken lassen. Wir haben es auf folgende Weise mit guter Ausbeute erhalten. In einem Kölbchen werden 150 bis 200 ccm Wasser auf 0° abgekühlt

[1]) Ber. **27**, 1510; **29**, 1724; **30**, 2003.

[2]) Seine Inaug.-Dissert. Petersburg 1898.

und darin allmählich 20 g Natriumsuperoxyd gelöst und der Lösung ebenfalls in kleinen Portionen und unter fortwährendem Schütteln und Abkühlen 50 g Benzoylchlorid zugesetzt. Nach einer Viertelstunde wird der abgeschiedene weisse Krystallbrei abfiltrirt, gut ausgewaschen und aus heissem Alkohol umkrystallisirt. Ein so dargestelltes Präparat ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

0.2893 g der über SO_4H_2 getrockneten Substanz gaben 0.1178 g H_2O und 0.7352 g CO_2 = 4.52 Proc. H und 69.31 Proc. C. Die Formel, $C_{14}H_{10}O_4$, verlangt 4.13 Proc. H und 69.42 Proc. C.

Benzoylsuperoxyd, Hunden von 15 bis 30 kg Körpergewicht in Fleischpillen gereicht, wird selbst in Dosen von 5 bis 10 g gut vertragen. Im ersten Versuche erhielt ein grosser, junger Hund, 30 kg schwer, 1 g Benzoylsuperoxyd. Die darauf gelassene 24stündige Harnmenge wurde durch einige Tropfen Sodalösung schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade zum starken Syrup eingedampft, hierauf nach dem Erkalten mit Alkohol extrahirt, das alkoholische Filtrat von Neuem auf dem Wasserbade verdunstet, der erkaltete Rückstand mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mehrfach mit Essigäther extrahirt. Nach Abdestilliren des Essigäthers und Zusatz von etwas Wasser schied sich die Hippursäure in braungefärbten Krystallnadeln ab, die bei der mikroskopischen Untersuchung ganz homogen und frei von Benzoësäure waren. Durch Umkrystallisiren der abfiltrirten und an der Luft getrockneten Krystalle aus heissem Wasser unter Zusatz von Thierkohle wurde die Hippursäure leicht rein erhalten. Nach Verfütterung von 1 g Benzoylsuperoxyd wurden 0.603 g Hippursäure erhalten. Nach Verfütterung von 2 g erhielten wir aus dem Harn 1.391 g Hippursäure. Nach Verfütterung von 5 g erhielten wir nur etwas über 2 g Hippursäure. Wäre alles einverleibte Benzoylsuperoxyd gespalten, so müssten nach 1 g Benzoylsuperoxyd 1.47 g Hippursäure ausgeschieden werden. Der absoluten Sicherheit wegen wurde die aus dem Harne des Versuchshundes erhaltene Hippursäure analysirt und ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2552 g der über SO_4H_2 getrockneten Substanz gaben 0.5623 g CO_2 und 0.1171 g H_2O. Ferner 0.3006 g gaben 21.1 ccm N-Gas bei 18.8° und 760.7 mm Bst. In Procenten wurden erhalten 60.10 Proc. C, 5.10 Proc. H und 8.13 Proc. N. Die Formel der Hippursäure, $C_9H_9NO_3$, verlangt C 60.33 Proc., H 5.03 Proc. und N 7.82 Proc.

Es unterliegt demnach keinem Zweifel, dass das verfütterte Benzoylsuperoxyd im Organismus gespalten und als Hippursäure ausgeschieden wird. Diese Spaltung ist aber selbst bei kleinen Dosen keine vollkommene, denn nach Verfütterung von 1 g Benzoylsuperoxyd erhielten wir aus dem Harne statt 1.47 g nur 0.603 g und nach 2 g Benzoylsuperoxyd statt 2.94 g nur 1.39 g Hippursäure, also etwas weniger als die Hälfte der erwarteten Menge. Bei grösseren Dosen von Benzoylsuperoxyd ist der Procentgehalt der erhaltenen Hippursäure noch geringer. Offenbar passirt selbst bei kleinen Dosen etwa die Hälfte des verfütterten Superoxyds den Darm unverändert und je grösser die Dose, um so weniger relativ wird davon im Darme gespalten. A priori war ein solches Resultat auch zu erwarten. Das Benzoylsuperoxyd ist in lauwarmem Wasser oder verdünnten Alkalien kaum löslich und wird erst beim Kochen mit freien Alkalien allmählich in Benzoesäure und Sauerstoff zer-

legt. Unsere Versuche zeigen im Gegentheil, wie energisch die Pankreasenzyme wirken, da sie selbst einen so schwer zerlegbaren Körper spalten können, denn dass diese Spaltung durch den pankreatischen Saft geschieht, davon haben wir uns durch directe Versuche überzeugt.

Um den natürlichen Verhältnissen besser zu entsprechen und da aus früheren Versuchen uns bekannt war, dass Gemische von Pankreassaft und Galle energischer wirken als Pankreassaft allein, haben wir abgemessene Mengen dieser beiden Verdauungssäfte mit Benzoylsuperoxyd gemischt und im Thermostaten eine Zeit lang stehen gelassen. Wenn durch die Verdauungssäfte das Superoxyd zersetzt war, so musste Sauerstoff frei werden. Das entwickelte Gas wurde daher aufgefangen und nach den Methoden von Bunsen und Doyer analysirt. Wir wollen hier die angestellten Versuche anführen.

Zu einem Gemische von 30 ccm frischen pankreatischen Saftes, erhalten von einem Hunde mit Pankreasfistel nach Milchfütterung (Verfahren von Pawlow) und 15 ccm Galle, erhalten von einem Hunde mit Gallenfistel, wurde 1 g feingepulvertes Benzoylsuperoxyd zugesetzt, tüchtig durchgeschüttelt und drei Stunden lang im Thermostaten bei 37^0 stehen gelassen. Die Anfangs gelbbraune Flüssigkeit wurde bald grün, später röthlich gefärbt. Nach dreistündigem Stehen wurden 17.4 ccm (auf 0^0 und 760 mm Bst. reducirt) Gas erhalten. Das Gas bestand in Volumprocenten aus 67.8 Proc. CO_2, 20.5 Proc. N und 11.7 Proc. O. Die alkalisch reagirende Verdauungsflüssigkeit wurde mit etwas HCl angesäuert, filtrirt und das Filtrat mit Aether extrahirt. Nach Verdunsten des ätherischen Auszuges hinterblieben Krystalle, welche, aus heissem Wasser umkrystallisirt, nach dem Trocknen bei 120^0 schmolzen und ausserdem durch die Krystallform und Verhalten beim trockenen Erhitzen genügend als Benzoësäure charakterisirt wurden. Unzweifelhaft ist also hier aus dem Benzoylsuperoxyd Sauerstoff frei geworden. Als wir den Versuch ceteris paribus wiederholten, nur mit dem Unterschiede, dass die Flüssigkeit nicht 3, sondern 10 Stunden im Thermostaten verblieb, wurden 20 ccm Gas erhalten, bestehend aus 18 ccm Kohlensäure, 2 ccm Stickstoff und keinem Sauerstoff. Der freiwerdende Sauerstoff oxydirt daher unter Kohlensäurebildung die organischen Substanzen der verdauenden Flüssigkeit; denn als wir in einem dritten Controlversuche die gleiche Menge Pankreassaft und Galle, jedoch ohne Benzoylsuperoxyd, 3 Stunden lang bei 37^0 stehen liessen, veränderte die Flüssigkeit ihre Farbe nicht und wurde überhaupt gar kein Gas entwickelt.

Wir haben diese Versuche in rein theoretischer Absicht unternommen und suchten zunächst zu erfahren, erstens, ob es möglich sei, im Darmrohr aus chemischer Verbindung Sauerstoff zu entwickeln, und zweitens, welchen Einfluss dieser Sauerstoff auf die Gährungsprocesse im Darmrohr haben wird. Unsere Versuche zeigen, dass im Darmrohr aus Benzoylsuperoxyd wohl Sauerstoff frei wird, jedoch in so geringer Menge, dass er unmöglich einen Einfluss auf die Gährungen ausüben kann, zumal die Verdauungssäfte selbst den freiwerdenden Sauerstoff absorbiren. In der That entsprechen z. B. die nach Verfütterung von 2 g Superoxyd erhaltenen 1.391 g Hippursäure im Harne 0.946 g zersetzten Superoxyds. Da nun Benzoylsuperoxyd bei der Zersetzung nach der Gleichung $(C_6H_5CO)_2O_2 + H_2O = (C_6H_5CO_2H)_2 + O$

nur 6.6 Proc. freien Sauerstoff giebt, so entsprechen die 0.946 g zersetzten Superoxyds nur 0.063 g freien Sauerstoffs = 44.7 ccm.

Obgleich nach dem eben Gesagten die Einverleibung von Benzoylsuperoxyd voraussichtlich keinen Einfluss auf die in den Harn übergehenden Producte der Darmfäulniss ausüben dürfte, so hat doch Herr Dr. Karužas bei mehreren Hunden eine Reihe von Bestimmungen der Schwefelsäure der Salze und der gepaarten Schwefelsäure, des Indigo und des Phenols im Harne vor und nach Verfütterung des Benzoylsuperoxyds ausgeführt. Das Ergebniss war, dass das Verhältniss der Schwefelsäure der Salze zu den Aetherschwefelsäuren ziemlich dasselbe war, vor wie nach der Benzoylsuperoxydfütterung. Das Gleiche war auch bezüglich der Indicanausscheidung der Fall. Phenol war bei den untersuchten Hunden weder vor noch nach der Benzoylsuperoxydfütterung in bestimmbaren Mengen im Harne vorhanden.

Aehnliche Versuche wie mit dem Benzoyl haben wir auch mit dem Phtalylsuperoxyd angestellt, welchen letzteren Körper, nur mit bedeutend geringerer Ausbeute, wir nach dem gleichen Verfahren wie das Benzoylsuperoxyd aus Phtalylchlorid dargestellt haben.

Nach Versuchen, die der Eine von uns schon vor vielen Jahren angestellt hat, geht Phtalsäure, an Hunde verfüttert, unverändert in den Harn über[1]. In drei Versuchen, wo wir Hunden Phtalylsuperoxyd in Dosen von 2 bis 5 g in Fleischpillen verabreichten, haben wir nur einmal etwa 0.02 g Phtalsäure aus den Aetherextracten des Harnes erhalten können. Phtalylsuperoxyd wird demnach nur in minimalen Mengen im Darmrohr zerlegt. Interessant ist es aber, dass dieser äusserst explosive Körper selbst in Dosen bis zu 5 g ohne Schaden vertragen wurde. Wir haben keine Versuche mit Superoxyden der aliphatischen Reihe angestellt. Möglicher Weise, dass sie als Sauerstoffentwickler in der Zukunft in der Medicin noch eine Bedeutung haben werden. Zunächst handelte es sich nur darum, zu constatiren, ob überhaupt im Organismus aus den Superoxyden Sauerstoff abgespalten wird. Für diesen Nachweis war das Benzoylsuperoxyd die geeignetste Verbindung. Unsere andere Absicht — den Einfluss des Sauerstoffs auf die Darmgährungen zu ermitteln — war vorläufig mittelst organischer Superoxyde nicht zu erreichen. Die Beschäftigung aber mit den organischen Superoxyden legte uns den Gedanken nahe, auch das Verhalten der Metallsuperoxyde im Organismus zu untersuchen. Von Wasserstoffsuperoxyd ist es seit Langem bekannt, dass es eine stark antiseptische Substanz ist. Von den Metallverbindungen des Wasserstoffsuperoxyds waren die meist bekannten, sei es wegen ihrer Giftigkeit, sei es wegen der physikalischen Eigenschaften, für physiologische Versuche nicht geeignet. Die für unsere Zwecke brauchbarste Verbindung war das Calciumsuperoxyd, womit wir auch physiologisch recht interessante Resultate erzielten.

Die Superoxyde der alkalischen Erden wurden von Schöne[2] und Conroy[3] dargestellt und näher untersucht. Wir haben das Hydrat des Calciumsuperoxyds nach den Angaben von Em. Schöne durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd

[1] Siehe Nencki's Opera omnia **1**, 25.
[2] Ber. **6**, 1173.
[3] Ebenda **6**, 769.

auf die Lösung des Calciumhydroxyds bereitet. Damit reines Product erhalten wird, ist es nothwendig, dass die in Wirkung tretenden Reagentien keine fremde Beimischung, namentlich Schwefel- oder Phosphorsäure, enthalten; auch ist es nothwendig, das Filtriren und Trocknen des Calciumsuperoxyds in einer kohlensäurefreien Atmosphäre auszuführen. Das lufttrockene krystallinische Salz ist nach der Formel $CaO_2 + 4 H_2O$ zusammengesetzt und ist in Wasser sehr wenig löslich. Die Lösung reagirt alkalisch und schmeckt etwas brennend, adstringirend. Da Calciumsuperoxyd durch Salzsäure in Wasserstoffsuperoxyd und Chlorcalcium zerlegt wird und Wasserstoffsuperoxyd mit Jodkalium sich nach der Gleichung $H_2O_2 + 2 KJ = 2 KHO + 2 J$ umsetzt, so lässt sich durch Titration des ausgeschiedenen Jods mit unterschwefligsaurem Natron der Gehalt an reinem CaO_2 in einem gegebenen Präparate leicht bestimmen. Bei der Zersetzung nach der Gleichung $CaO_2 + H_2O = Ca(OH)_2 + O$ giebt das wasserfreie Superoxyd 22.2 Proc. Sauerstoff und das wasserhaltige Salz $= CaO_2 + 4 H_2O$ genau die Hälfte davon, d. h. 11.1 Proc. Je nach dem Wassergehalte schwankt daher die Menge des activen Sauerstoffs in den verschiedenen Präparaten. Immerhin ist sie bedeutend grösser als die aus dem Benzoylsuperoxyd erhältliche, welche letzte Verbindung theoretisch nur 6.6 Proc. freien Sauerstoff geben kann.

Unsere nächste Aufgabe war, die eventuelle Giftigkeit des Calciumsuperoxyds, sodann das Verhalten dieses Salzes gegen den Magensaft bezw. Pankreassaft und Galle zu ermitteln. In Bezug auf die erste Frage fanden wir, dass von Hunden nicht allein kleine Dosen von 2 bis 4 g, sondern selbst einmalige Dosen von 6 bis 10 g, in Fleischpillen verabreicht, anscheinend ohne jede Störung, gut vertragen werden; auch bezüglich der zweiten Frage waren die Resultate günstig, da das Calciumsuperoxyd sowohl durch den Magensaft, wie auch durch das Gemisch von Pankreassaft und Galle unter Freiwerden von Sauerstoff zerlegt wird, wie dies aus folgenden Versuchen hervorgeht:

1. Zu 40 ccm Magensaft — nach der Methode von Pawlow vom gastro- und oesophagotomirten Hunde erhalten — wurden in einem mit Ableitungsröhrchen versehenen Kölbchen 0.5 g CaO_2 zugesetzt und das während dreistündigen Stehens im Thermostaten bei 37^0 entweichende Gas über Quecksilber aufgefangen und analysirt. Auf 0^0 Temperatur und 760 mm Bst. reducirt, war die entwickelte Gasmenge = 22.14 ccm; nach Absorption der CO_2 = 20.63 ccm und nach Absorption des O = 6.86 ccm. Das Gas bestand demnach in Volumprocenten aus 6.8 Proc. CO_2 und 62.2 Proc. O. Der Rest war Stickstoff.

2. Auf gleiche Weise wurden 20 ccm pankreatischen Saftes, 10 ccm Hundegalle aus der Gallenfistel und 0.5 g CaO_2 für $2^1/_2$ Stunden im Thermostaten stehen gelassen; die Anfangs braungelbe Flüssigkeit wurde hellgrün. Entwickelte Gasmenge = 35.11 ccm. Nach Absorption der CO_2 = 31.35 ccm. Nach Absorption des O = 2.81 ccm. Folglich enthielt das Gas in Volumprocenten 10.7 Proc. CO_2 und 81.3 Proc. O.

3. 30 ccm pankreatischen Saftes, 15 ccm Hundegalle und 1 g CaO_2 wurden im Thermostaten 3 Stunden lang stehen gelassen. Die Flüssigkeit wurde hellroth. Entwickelte Gasmenge = 21.35 ccm. Nach Absorption der CO_2 = 20.95 ccm.

Nach Absorption des O = 0.94 ccm. Das Gas enthielt also in Volumprocenten 1.87 Proc. CO_2 und 95.5 Proc. O.

4. 20 ccm Pankreassaft und 10 ccm Galle wurden mit 20.46 ccm reinem aus chlorsaurem Kalium dargestelltem Sauerstoff 3 Stunden lang im Thermostaten stehen gelassen. Die Flüssigkeit nahm eine dunkelrothe Farbe an. Die entwickelte Gasmenge war = 23.84 ccm. Nach Absorption der CO_2 = 18.70 ccm. Nach Absorption des O = 0.55 ccm. In diesem Falle wurden von den Verdauungssäften absorbirt 2.31 ccm Sauerstoff und dafür 5.14 ccm Kohlensäure entwickelt. Dies geschieht offenbar, auch wenn der Sauerstoff aus dem Calciumsuperoxyd herstammt.

Dass bei Anwendung von Magensaft aus dem CaO_2 zuerst H_2O_2 und erst aus dem letzteren freier Sauerstoff entstehen wird, das war von vornherein zu erwarten. Bemerkenswerth ist es aber, dass auch bei Anwendung von alkalischen Säften, wie Pankreassaft und Galle, ebenfalls Sauerstoff entsteht. Wir finden darin eine Bestätigung der früheren Versuche von Guttmann[1]), Schwerin[2]) und Coppola[3]), wonach H_2O_2 innerhalb des Thierkörpers in Berührung mit dem alkalisch reagirenden Blute sich unter Freiwerden von Sauerstoff zersetzt. Dass bei Anwendung des Magensaftes Calciumsuperoxyd in verhältnissmässig kurzer Zeit bei der Bruttemperatur gelöst wird, geht aus folgenden Versuchen hervor:

1. Zu 50 ccm frischen Magensaftes wurden 0.5 g CaO_2 zugesetzt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Pulver löste sich nur langsam auf unter schwacher Gasentwickelung. Nach einer Stunde wurde vom Ungelösten filtrirt und zum Filtrate 10 ccm 20 proc. Jodkaliumlösung zugesetzt. Es hat sich Jod ausgeschieden, das mit einer titrirten Lösung von $S_2O_3Na_2$ bestimmt wurde. Auf freien Sauerstoff berechnet enthielt das Filtrat davon 12.6 ccm.

2. Zu 50 ccm frischen Magensaftes wurden 0.5 g CaO_2 zugesetzt und im Thermostaten bei 37° 3 Stunden lang stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit war das Pulver bis auf einen minimalen Rest gelöst. Die Flüssigkeit wurde filtrirt und das Filtrat mit Jodkaliumlösung versetzt. Auch hier hat sich Jod abgeschieden, das mit $S_2O_3Na_2$ titrirt und auf freien Sauerstoff umgerechnet 15.5 ccm O im Filtrate entsprach.

Die Thatsache, dass selbst grössere Mengen des Calciumsuperoxyds dem Magen ohne Schaden zugeführt werden können, spricht dafür, dass CaO_2 nicht als solches resorbirt, sondern im Verdauungstractus zerlegt wird. Anderenfalls müssten auf Grund der Versuche von Coppola, nach einigermaassen grösserer resorbirter Quantität des CaO_2, tödtliche Embolien, in Folge des in den Blutgefässen freiwerdenden Sauerstoffs, eintreten, was wir bei den zahlreichen Versuchen an Thieren und auch an Menschen nie beobachtet haben.

Unsere Versuche über den Einfluss des Calciumsuperoxyds auf die Fäulniss im Darme haben wir an drei Hunden angestellt, die mit Fleisch und Hafergrütze gefüttert wurden. Der Stickstoffgehalt des Harns schwankte wenig und betrug durchschnittlich 2 Proc. Ebenso war das Verhältniss des Harnstoffstickstoffs zum Gesammt-

[1]) Virchow's Archiv **73**, 23.
[2]) Ebenda **73**, 37.
[3]) Maly's Jahresber. **17**, 103.

stickstoff normal, indem der Harnstoffstickstoff 80 bis 87 Proc. des Gesammtstickstoffs ausmachte. Irgend welche abnorme Bestandtheile oder Eiweiss, Zucker, Gallenfarbstoff enthielt der Harn dieser Hunde auch nach grösseren Gaben von CaO_2 nicht. Nur die Reaction des Harns wurde nach CaO_2 alkalisch, oder, falls der Harn schon vorher alkalisch reagirte, wurde die Alkalescenz stärker.

Die Gesammtschwefelsäure und die Aetherschwefelsäure im Harne wurde nach der Vorschrift von Salkowski bestimmt. Phenol bezw. p-Kresol war im Harne der Hunde, an denen wir experimentirten, vor oder nach der CaO_2-Fütterung höchst selten, und dann nur in Spuren, während der Fütterung mit dem Superoxyd nie im Harne vorhanden. Zur Bestimmung des Indicans wurde der Harn nach F. Obermeyer mit unzureichender Menge Bleizucker gefällt, durch trockenes Filter filtrirt, 5 ccm des Filtrats mit 5 ccm rauchender Salzsäure, die 2 pro mille sublimirtes $FeCl_3$ enthielt, versetzt, 1 bis 2 Minuten durchgeschüttelt und das Indigo mit 2 ccm Chloroform aufgenommen und colorimetrisch bestimmt, d. h. mit Lösungen von Indigo in Chloroform von bestimmtem Gehalt und absteigender Concentration verglichen. Bekanntlich ist reines Indigoblau in Chloroform nur spurenweise löslich. Nach unseren Bestimmungen enthalten 100 ccm bei 20° gesättigter Chloroformlösung 0.84 mg Indigoblau. Concentrirtere Lösungen des Harnindigo wurden daher so lange mit bestimmten Mengen von Chloroform verdünnt, bis sie einer Probe unserer Farbenscala entsprachen. Die Normallösungen, im Dunkeln und in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahrt, sind Monate lang haltbar. Diese Indicanbestimmungen können vollkommene Genauigkeit nicht beanspruchen, doch waren sie für unseren Zweck genügend und sind sehr leicht auszuführen.

Die S. 677 und 678 folgenden Tabellen zeigen den Einfluss der CaO_2-Fütterung auf die Ausscheidung des Indicans und der Aetherschwefelsäuren.

Die erhaltenen Zahlen zeigen, dass bei dem Hunde Nr. I im ersten Versuche weder Indican noch die Aetherschwefelsäuren nach Verabreichung von 2, 4 und selbst 8 g des Calciumsuperoxyds merklich herabgesetzt wurden. Erst nach 10 g CaO_2 sind die Aetherschwefelsäuren etwas vermindert und das Indican ganz verschwunden. Aber in der dritten Serie des Versuches mit Hund Nr. I ist selbst nach einer Dose von 12 g CaO_2 nur an diesem Tage eine Verminderung der Aetherschwefelsäure und des Indigo bemerkbar und schon am nächsten Tage ist die Ausscheidung der beiden Indicatoren der Darmfäulniss wie an den Tagen vor der CaO_2-Fütterung. Die Wirkung des Superoxyds ist eine kurzdauernde. Bei den Hunden Nr. II und III, die fast täglich CaO_2 erhielten, ist die Verminderung der Aetherschwefelsäure und Schwund des Indicans deutlich erkennbar.

Hervorheben müssen wir, dass die Hunde eigentlich nur halb so grosse Dosen des Superoxyds, als in den Tabellen angegeben, erhielten, da wir stets nicht das wasserfreie, sondern das wasserhaltige Salz $= CaO_2 + 4H_2O$, das nur etwas verwittert war, verfütterten. Das von uns dargestellte Calciumsuperoxyd war über Schwefelsäure und Aetzkali getrocknet und später in gut schliessenden Gefässen aufbewahrt. Dabei verlor die Verbindung, entgegen der Angabe von Em. Schöne (l. c. S. 1173), das Krystallwasser nicht vollständig. Wasserfreies Calciumsuperoxyd bei der Zersetzung nach der Gleichung $CaO_2 + H_2O = Ca(OH)_2 + O$ müsste

155.2 ccm Sauerstoff, das wasserhaltige $CaO_2 + 4H_2O$ dagegen genau die Hälfte, d. h. 77.6 ccm Sauerstoff (auf 0° C. und 760 mm Hg-Druck bezogen), entwickeln. Während der Fütterungsversuche haben wir wiederholt unser Präparat mit Salzsäure zersetzt und dabei das entwickelte Sauerstoffvolumen gemessen. Wir erhielten für je 1 g des Präparates 86.4 ccm, 88.3 ccm, 87.9 ccm, 87.5 ccm, im Mittel also 87.5 ccm = 0.1251 g Sauerstoff; also etwa 10 ccm mehr, als die Formel $CaO_2 + 4H_2O$ verlangt.

Bei unseren Versuchen wurde das in Fleisch eingewickelte Pulver den Thieren in den Rachen hineingeschoben. Ein Theil des Superoxyds ist daher schon im

Datum	Verabreichtes Calciumsuperoxyd in Grammen	24 stündige Harnmenge	Specifisches Gewicht	Reaction	Gesammt-SO_4H_2 in 100 A	Aether-SO_4H_2 in 100 B	$\frac{B}{A}$	Indigo in mg in 100 ccm Harn
	Hund Nr. I, 28 kg schwer.							
17. XII.	—	970	1.036	alkalisch	0.2904	0.0225	1 : 13	0.34
18. „	—	1350	1.031	„	0.2582	0.0167	1 : 16	0.35
19. „	—	1360	1.027	„	—	—	—	0.45
20. „	2 g CaO_2	1200	1.033	stark alkal.	0.2938	0.0130	1 : 23	0.67
21. „	4 g CaO_2	1390	1.030	„	0.2432	0.0148	1 : 16	0.34
22. „	8 g CaO_2	1360	1.026	alkalisch	0.2298	0.0130	1 : 18	0.11
31. „	—	—	—	—	—	—	—	0.45
1. I.	—	—	—	—	—	—	—	0.34
2. „	10 g CaO_2	1240	1.031	alkalisch	0.2034	0.0084	1 : 24	0
3. „	—	1500	1.027	„	0.2270	0.0109	1 : 20	0
4. „	—	1250	1.023	„	0.1650	0.0091	1 : 18	0
5. „	—	1500	1.023	„	0.1641	0.0070	1 : 24	0
6. „	—	1760	1.022	„	0.2414	0.0193	1 : 25	0.78
7. „	—	1510	1.033	„	0.1891	0.0144	1 : 13	Spuren
22. „	—	1880	1.023	alkalisch	0.1916	0.0217	1 . 9	0.34
23. „	—	2100	1.024	„	0.1580	0.0204	1 : 8	0.22
24. „	12 g CaO_2	1700	1.023	„	0.2220	0.0097	1 . 23	Spuren
25. „	—	1680	1.026	neutral	0.1928	0.0165	1 : 11	0.22
26. „	—	1470	1.027	„	0.1767	0.0185	1 : 10	0.23
	Hund Nr. II, 29 kg schwer.							
30. „	—	1400	1.023	schwach alkalisch	0.2064	0.0236	1 : 9	1.12
31. „	10 g CaO_2	1970	1.019	„	0.2002	0.0205	1 : 10	0.90
1. II.	—	2010	1.025	„	0.2056	0.0224	1 : 9	1.01
2. „	10 g CaO_2	2100	1.030	alkalisch	0.2134	0.0148	1 : 14	0
3. „	15 g CaO_2 in zwei Port., worauf d. Hund erbrach	2010	1.023	„	0.2120	0.0142	1 : 15	0
4. „	—	2120	1.018	„	0.2102	0.0194	1 : 11	0.34
5. „	2 Mal je 5 g CaO_2 . . .	2100	1.018	„	0.2218	0.0140	1 : 15	0
6. „	Desgleichen	1960	1.020	„	0.2324	0.0146	1 : 16	0
7. „	3 Mal je 5 g CaO_2 . . .	2060	1.019	„	0.2278	0.0143	1 : 16	0
8. „	Desgleichen	1920	1.019	„	0.2252	0.0134	1 ; 17	0
9. „	2 Mal je 5 g CaO_2 . . .	1980	1.020	„	0.2334	0.0157	1 : 15	0

Datum	Verabreichtes Calciumsuperoxyd in Grammen	24 stündige Harnmenge	Specifisches Gewicht	Reaction	Gesammt-SO_4H_2 in 100 A	Aether-SO_4H_2 in 100 B	B/A	Indigo in mg in 100 ccm Harn
	Hund Nr. III, 15.5 kg schwer.							
17. II.	—	700	1.014	schwach alkalisch	0.1676	0.0092	1 : 18	1.90
18. „	—	520	1.012	„	0.2043	0.0102	1 : 20	1.01
19. „	—	490	1.010	„	0.2066	0.0109	1 : 19	0.90
20. „	2 Mal je 3 g CaO_2 . . .	650	1.020	„	0.2993	0.0159	1 : 19	0.31
21. „	3 g CaO_2 vor dem Futter	740	1.016	„	0.2083	0.0066	1 : 32	Spuren
22. „	Desgleichen	930	1.015	„	0.1924	0.0071	1 : 27	Spuren
23. „	5 g CaO_2 nach dem Futter	350	1.029	„	0.3080	0.0085	1 : 36	0
24. „	3 g CaO_2 nach dem Futter	180	1.041	„	0.5399	0.0167	1 : 32	0
25. „	8 g CaO_2 vor dem Futter	630	1.036	„	0.4704	0.0152	1 : 31	0
26. „	5 g CaO_2 mit dem Futter	1010	1.022	neutral	0.2137	0.0062	1 : 34	0
27. „	3 g CaO_2 vor dem Futter	830	1.015	„	0.1304	0.0048	1 : 27	0
28. „	—	1350	1.015	„	—	—	—	0.22
1. III.	—	1080	1.020	„	—	—	—	0.67
2. „	—	1180	1.021	„	—	—	—	0.22

Magen zersetzt worden und wahrscheinlich nur der kleinere Theil kam im Darme zur Wirkung. Nehmen wir an, dass im Darme 3 bis 5 g des verabreichten Superoxyds zerlegt wurden, so ergiebt das 250 bis 435 ccm Sauerstoff, und es ist jedenfalls interessant, dass diese geringe Menge der Substanz die Bildung der Fäulnissproducte entschieden herabsetzte.

Wenn wir uns die Frage stellen, was eigentlich hier die Fäulniss verminderte, das entstandene Kalkhydrat, das Wasserstoffsuperoxyd oder der daraus entwickelte Sauerstoff, so ist eine bestimmte Antwort hierauf schwer zu geben. Aus den noch zu erwähnenden Versuchen des Dr. Roszkowski geht hervor, dass das Calciumsuperoxyd ein vorzüglicher Ersatz der Kalkmilch ist bei der Dyspepsia acida und den Sommerdiarrhoeen der Kinder. Die antiseptische Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds ist durch die Untersuchungen früherer Forscher wohl bekannt. Nach Hettinga Tromp[1]) wurden Typhusbacillen nach 5 Minuten durch 5 pro mille-, Choleravibrionen durch 1 pro mille-Lösung von H_2O_2 getödtet. Selbst Milzbrandsporen sollen durch 5 pro mille-Lösungen abgetödtet werden. Aber warum wirkt H_2O_2 antiseptisch? Vielleicht doch nur deshalb, weil es, wie schon Thénard[2]) gefunden, in Berührung mit thierischen Flüssigkeiten oder Geweben in Wasser und atomistischen Sauerstoff zerfällt, und die oxydirende bezw. mikrobenzerstörende Wirkung des letzteren ist, gleich wie die des Ozons, zweifellos.

Um zu ermitteln, wie viel Calciumsuperoxyd bei Ausschluss des Magens im Darme zerlegt wird, haben wir Pillen aus CaO_2 und Lakritzensaft, die mit ammoniakalischer Keratinlösung überzogen wurden, angefertigt. Jede Pille enthielt 0.5 g CaO_2.

---

[1]) Maly's Jahresber. **17**, 473.

[2]) Ebenda **12**, 108.

Die Pillen erwiesen sich als unbrauchbar, da sie unverändert in Excremente der Hunde übergingen. Wir beabsichtigen, diese Versuche mit den Glutoidkapseln von Sahli[1]) zu wiederholen; auch sind wir mit der Darstellung von Magnesiumsuperoxyd beschäftigt. Wenn Magnesiumsuperoxyd den gleichen Effect wie das Calciumsuperoxyd haben wird, dann ist die Annahme gerechtfertigt, dass die fäulnisswidrige Wirkung dieser Superoxyde im Darme in erster Linie auf den nascirenden atomistischen Sauerstoff zurückzuführen ist.

Das unschädliche Verhalten des Calciumsuperoxyds, wie wir uns überzeugt haben, auch für den menschlichen Organismus, veranlasste uns, zu prüfen, ob bei Verdauungsstörungen das Calciumsuperoxyd sowohl wegen seiner Alkalinität, wie wegen seiner antiseptischen Eigenschaften nicht von therapeutischem Nutzen sein werde. Herr Dr. J. Roszkowski, Arzt am Kinderspital in Warschau, hat auf unseren Vorschlag hin seit Anfang des Jahres 1898 das Calciumsuperoxyd bei verschiedenen Krankheiten des Magens und des Darms angewendet und seine Beobachtungen darüber in der Gazeta Lekarska[2]) veröffentlicht. Danach soll das Calciumsuperoxyd, namentlich bei Dyspepsia acida der Kinder, von ganz vorzüglicher Wirkung sein. Wir möchten aus diesem Anlasse dankbar erwähnen, dass uns für diese klinischen Versuche die bekannte Firma von Dr. F. v. Heyden Nachfolger in Radebeul bei Dresden das Calciumsuperoxyd, das von ihr unter dem Namen „Gorit“ bezogen werden kann, in grösseren Quantitäten und chemisch reinem Zustande zur Verfügung stellte.

Die Xanthinkörper der Nebennieren

von

J. Okerblom.

Zeitschr. f. physiolog. Chem. **28**, 60. — Inaug.-Dissert. Petersburg (1900).

Durch die Entdeckung von N. Cybulski und G. Olivier, dass der brenzcatechinähnliche Körper der Nebennieren blutdruckerhöhende Eigenschaften hat, ist das Interesse der physiologischen Chemiker für dieses Organ ein sehr reges geworden. Prof. Nencki, der mit der Darstellung dieser wirksamen Substanz beschäftigt war, machte die Beobachtung, dass beim Verdunsten wässeriger Extracte der Nebennieren im Vacuum sich ein fein krystallinischer Niederschlag abscheidet, dessen Untersuchung ergab, dass es wesentlich aus Xanthin und den ihm verwandten Körpern besteht. Auf Wunsch von Prof. Nencki habe ich die genauere Untersuchung der Xanthinkörper der Nebennieren unternommen, und die bis jetzt erhaltenen Resultate bilden den Gegenstand der vorliegenden kurzen Mittheilung.

---

[1]) Deutsches Archiv f. klin. Med. **61**, 445.

[2]) Jahrgang 1899. Nr. 30.

Gut von Fett und Bindegewebe befreite Nebennieren vom Rind wurden in einer Wurstmaschine feingehackt, in Portionen von 300 bis 500 g mit dem fünffachen Gewicht Wasser übergossen, zur Verhütung der Fäulniss auf je 1 Liter Wasser mit 5 ccm Chloroform versetzt und zwei Tage lang bei Bruttemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde die Flüssigkeit, um die Eiweissstoffe zu coaguliren, auf dem Wasserbade erwärmt und mit verdünnter Essigsäure bis zu schwach saurer Reaction angesäuert. Das klare Filtrat wurde im Vacuum bei 35 bis 40° auf ein kleines Volumen verdunstet, worauf sich an den Wänden und am Boden des Gefässes ein weisslich-graues Pulver abgeschieden hat. Dieses Pulver, abfiltrirt und mit Wasser nachgewaschen, bestand, unter dem Mikroskope betrachtet, aus undeutlich krystallinischen Körnchen, die im polarisirten Lichte betrachtet doppeltbrechend waren. Qualitative Proben ergaben darin keinen Phosphor oder Schwefel, wohl aber einen hohen Stickstoffgehalt. Eine Probe der Substanz, auf Porcellandeckel mit Salpetersäure verdunstet, hinterliess einen gelben Fleck, der durch Natronlauge schön roth wurde. Da dadurch die Anwesenheit von Xanthin oder Körpern der Xanthingruppe anzunehmen war, so wurde die Untersuchung des Pulvers nach der kürzlich von M. Krüger und G. Salomon [1]) für die Xanthinkörper ausgearbeiteten Methode ausgeführt.

8 g der Substanz — soviel betrug die Ausbeute aus 7.8 kg frischer Nebennieren — wurden in verdünnter Salzsäure aufgelöst. Da kein Rückstand hinterblieb, so war in dem Rohproduct keine nennenswerthe Menge von Harnsäure vorhanden. Die Lösung wurde eingedampft und der syrupöse Rückstand zur Entfernung noch vorhandener Salzsäure mit 96 proc. Alkohol vermischt und von Neuem verdunstet, wobei die Masse grobpulverig wurde. Dieselbe wurde mit Wasser bei 40° digerirt, nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt, mit Wasser salzsäurefrei, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Der Rückstand bei 120° getrocknet wog 5.5 g. Hierbei konnten in dem ungelösten Theile Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, in der wässerigen Lösung: Epiguanin, Adenin, Hypoxanthin und Paraxanthin, sowie eine geringe Menge von Heteroxanthin und 1-Methylxanthin enthalten sein.

Xanthinfraction — 5.5 g. Das Gemenge wurde in 3.3 proc. chlorfreier Natronlauge gelöst und 24 Stunden lang stehen gelassen, da aber keine Ausscheidung erfolgte, so konnte Heteroxanthin nicht darin enthalten sein. Die Lösung wurde auf 60° erwärmt und in ein kaltes Gemisch von 2.5 ccm concentrirter Salpetersäure und 25 ccm Wasser langsam und unter Umrühren eingetragen. Beim Stehen in der Kälte schied sich salpetersaures Xanthin aus. Zur Darstellung des freien Xanthins wurde die ammoniakalische Lösung des Nitrates mit Essigsäure gefällt und der Niederschlag mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen. Ich erhielt 3.56 g der bei 120° getrockneten Substanz, deren Analyse folgende Zahlen ergab: 0.2122 g gaben 0.3071 g CO_2 und 0.0505 g H_2O.

0.1169 g der Substanz gaben 36.6 ccm N-Gas bei 750 mm Bst. und 13.4° C.

Ber.: für $C_5H_4N_4O_2$			Gefunden:		
C	39.47	Proc.	C	39.46	Proc.
H	2.63	„	H	2.69	„
N	36.84	„	N	36.86	„

[1]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. **26**, 354.

Das 1-Methylxanthin wurde aus dem salpetersauren Filtrate von Xanthinnitrat durch Uebersättigen mit Ammoniak und Eindampfen der Lösung als atlasglänzende Masse erhalten. Dieselbe wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung mit verdünnter, warmer Salzsäure schwach angesäuert. Das 1-Methylxanthin fiel als schweres Krystallpulver nieder. Die Menge desselben betrug nach dem Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Aether und nach dem Trocknen bei 120° 0.5 g. Die Analyse ergab: 0.1875 g der Substanz gaben 0.2955 g CO_2 und 0.0656 g H_2O.

Ber.: für $C_6H_6N_4O_2$		Gefunden:	
C	43.37 Proc.	C	42.98 Proc.
H	3.61 „	H	3.89 „

Hypoxanthinfraction. Die vom Xanthin und 1-Methylxanthin abfiltrirte salzsaure Lösung wurde heiss mit Ammoniak übersättigt und von ausgeschiedenem Eisenhydroxyd abfiltrirt. Beim Erkalten schieden sich in sehr geringer Menge kleine glänzende Prismen aus, die beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Fleck hinterliessen, der mit Natronlauge orangeroth und bei weiterem Erwärmen violett wurde. Diese Reaction, sowie das Aussehen der Krystalle unter dem Mikroskop sprechen dafür, dass es Epiguanin war.

Das Filtrat wurde durch Kochen von Ammoniak befreit und die nicht zu concentrirte Lösung in der Kälte mit Pikrinsäurelösung in geringem Ueberschusse versetzt. Das in geringer Menge ausgeschiedene Pikrat wurde abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Die Menge des trockenen Salzes betrug 0.08 g. Im Capillarrohr erhitzt, schmolzen die Krystalle bei 272 bis 273° unter Zersetzung. Allem Anscheine nach lag also Adeninpikrat vor.

Das mit Schwefelsäure angesäuerte Filtrat wurde durch Ausschütteln mit Benzol von überschüssiger Pikrinsäure befreit und die Gesammtmenge der noch vorhandenen Basen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wurde durch Schwefelwasserstoff zersetzt und die wässerige Lösung der Basen eingedampft. Der Rückstand, der 1.5 g wog, wurde in 50 ccm heisser, verdünnter Salpetersäure gelöst. Beim Erkalten schieden sich wetzsteinförmige Krystalle aus, die mit verdünnter Salpetersäure, dann mit Alkohol und Aether gewaschen wurden. Bei 120° getrocknet, wogen die Krystalle 0.2 g und schienen aus reinem Hypoxanthinnitrat zu bestehen. Leider ist mir ein Theil der Substanz bei der Analyse verloren gegangen, so dass ich nur mit einem geringen Rest eine Stickstoffbestimmung ausführen konnte. 0.0625 g des Nitrates gaben 19 ccm N-Gas bei 17° C. und 754 mm Bst., entsprechend 35.17 Proc. N. Die Formel $C_5H_4N_4O NO_3H$ verlangt 35.23 Proc. N.

Nach der Methode von M. Krüger und G. Salomon konnte ich daher aus 8 g der Xanthinbasen: Xanthin, 1-Methylxanthin und Hypoxanthin in reinem Zustande isoliren und mit grosser Wahrscheinlichkeit das Vorhandensein von Epiguanin und Adenin nachweisen. Da die Mutterlauge des Xanthinnitrates beim Uebersättigen mit Ammoniak keinen Rückstand hinterliess, so war darin auch kein Guanin vorhanden.

Ueber die uns interessirenden Substanzen der Nebenniere habe ich nur die einzige in Strecker's Laboratorium ausgeführte Untersuchung aus dem Jahre 1867

von Dr. F. Holm [1]) aus Petersburg finden können. Um etwa vorhandene Harnsäure und Xanthin vollständig dem Gewebe zu entziehen, hat Holm nach der Behandlung mit Weingeist noch eine Digestion mit Wasser bei 50° vorgenommen und die erhaltene Flüssigkeit nach einander mit neutralem und basischem Bleiacetat, dann mit Kupferacetat behandelt. — „Der basische Bleiniederschlag enthielt keine Harnsäure und lieferte eine reichliche Menge Inosit. Der Kupferniederschlag war frei von Xanthin und enthielt viel Hypoxanthin, leicht löslich in verdünnter Salzsäure, beim Verdunsten ein in Nadeln krystallisirendes Salz gebend, das mit Kohle entfärbt und mit Ammoniak zur Trockne verdampft nach dem Ausziehen mit Wasser schwach gelb gefärbtes Hypoxanthin hinterliess. Dieses in verdünnter Salpetersäure gelöst und vorsichtig verdunstet, hinterliess einen kaum gelblichen Fleck, der bei stärkerem Erhitzen rein citronengelb und beim Befeuchten und Erwärmen mit Natronlauge prächtig purpurfarben wurde."

Wie aus meiner Untersuchung hervorgeht, besteht, im Gegensatz zu der Angabe Dr. Holm's, die Hauptmenge der Xanthinkörper der Nebenniere aus Xanthin. Dann folgen das 1-Methylxanthin, das Hypoxanthin, das Epiguanin und das Adenin. Es ist wohl möglich, dass bei Verarbeitung grösserer Quanta dieser Drüse noch mehr hierher gehörige Substanzen aufgefunden werden. Bemerken muss ich, dass, als ich 1.8 kg frischer Nebennieren sofort auf gleiche Weise verarbeitete, ich nur 0.5 g der Xanthinbasen, also 3.7 mal weniger, als nach zweitägiger Digestion bei der Bruttemperatur, erhalten habe.

Ueber die Harnstoffbestimmung im Harne

von

S. Salaskin und **J. Zaleski.**

Zeitschr. für physiol. Chem. 28, 73. — Referirt von den Herausgebern.

Bei der Harnstoffbestimmung im Büffelharn nach Mörner-Sjöqvist (Skandin. Arch. für Phys. 2, 440) fanden Verff. zu hohe Zahlen für Harnstoff und constatirten in alkoholisch-ätherischem Filtrate die Anwesenheit von Hippursäure. Sie haben daher das Verfahren von Mörner-Sjöqvist auf folgende Weise abgeändert: Alkoholisch-ätherischer Auszug wird in einem dickwandigen Gefässe unter vermindertem Druck bei 40° auf ein kleines Volumen von 10 ccm abgedampft. Dann setzt man 0.2 bis 0.3 g gebrannte Magnesia hinzu und destillirt das Ammoniak unter demselben Drucke ab. Nach vier bis sechs Stunden, wenn die Flüssigkeit von Neuem auf ein Volumen von ungefähr 10 ccm gebracht ist, werden 4 ccm Salzsäure von 1.12 Dichte hinzugesetzt. Die ganze Flüssigkeitsmenge wird genau gemessen, dann umgeschüttelt, daraus mittelst einer Pipette 10, 15 oder 20 ccm entnommen und in einer Einschmelz-

[1]) Journ. f. prakt. Chem. Jahrgang 1867, S. 150.

röhre drei Stunden lang auf 130 bis 140° erhitzt. Der Inhalt wird aus einem Kolben mit 2 g MgO in $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure destillirt; als Indicator verwendeten Verff. ein Gemisch von Lacmoid und Malachitgrün. Controlversuche haben gezeigt, dass der Harnstoff bei diesem Verfahren vollständig zerlegt wird.

Parallele Harnstoffbestimmungen im Harne nach verschiedenen Methoden gaben folgende Resultate:

Hundeharn.

Nach Mörner-Sjöqvist	92.6 Proc.	(Harnstoffstickstoff in Procenten des Gesammtstickstoffes)
Nach veränderter Methode	88.7 „	

Menschenharn.

Nach Mörner-Sjöqvist	91.5	90.2 Proc.
Nach veränderter Methode	81.0	84.7 „

Büffelharn.

Nach Mörner-Sjöqvist	88.4	82.3 Proc.
Nach veränderter Methode	56.3	38.1 „
Nach Methode von Schöndorff (Pflügers Arch. 62)	—	41.9 „

Dasselbe Verfahren wurde auch zur Harnstoffbestimmung im Liebig'schen Fleischextracte angewendet. Die 5 proc. Lösung wurde eine Stunde gekocht.

Nach Mörner-Sjöqvist	54.3 Proc.	(in Procenten des Gesammtstickstoffes)
Nach veränderter Methode	1.9 „	
Nach Schöndorff	6.3 „	

Die Immunisation gegen die Rinderpest nach den im Institut für experimentelle Medicin in St. Petersburg und auf der Station „Iknewi" im Gouvernement Tiflis gesammelten Erfahrungen

von

M. Nencki, N. Sieber und **W. Wyżnikiewicz.**

Archives internationales de Pharmacodynamie 5, 475.
— Arch. des sciences biolog. 7, 303.

Unsere Untersuchungen über die Rinderpest, die auf Veranlassung des Curators des Institutes für experimentelle Medicin in St. Petersburg, S. H. des Prinzen A. P. von Oldenburg, im Sommer des Jahres 1895 im Lande der Kubanschen Kosaken unternommen wurden, hatten den doppelten Zweck: einerseits die Aetiologie der Rinderpest aufzuklären, andererseits Mittel zu finden, um die Verbreitung dieser Krankheit zu verhüten, eventuell sie zu heilen. Die Resultate der Untersuchungen über den ersten Theil unserer Aufgabe haben wir in dem russischen Archiv für Veterinärkunde, Jahrgang 1896 und 1897, in der Berliner klinischen Wochenschrift, Jahrgang 1897, Nr. 24 (dieser Band S. 602), sowie im Centralblatt für Bacteriologie

23, 529 (dieser Band S. 640) und zuletzt ausführlich in den vom Institute herausgegebenen Archives des sciences biolog. 6, 374 veröffentlicht[1]).

Was den zweiten Theil unserer Aufgabe betrifft, so haben wir schon im Jahre 1896 die Beobachtung publicirt, dass im Blutserum von Thieren, die die Rinderpest überstanden haben, ein Schutzstoff enthalten sei, der, gesunden Thieren beigebracht, sie gegen die Infection mit Rinderpest unempfänglich macht. Es wurde dadurch zwar der Weg gefunden, auf dem ein Erfolg zu hoffen war, es bedürfte aber noch vieler Versuche, um die zweckmässigste Methode auszuarbeiten; denn das Serum von Thieren, die einfach die Pest überstanden haben, war viel zu schwach. Wir suchten nun, ähnlich wie bei der Darstellung des Heilserums gegen Diphtherie, des Antistreptococcenserums u. s. w., durch Injection von immer grösseren Mengen des Virus die Immunität unserer Thiere zu erhöhen.

Von grossem Nutzen waren uns daher die in unserer Abtheilung für Herstellung der Heilsera gemachten Erfahrungen, denn die Entnahme des Blutes, Verhinderung seiner Gerinnung, Abscheidung des Serums und viele kleinere technische Handgriffe mussten wir speciell für die Rinderpestimmunisation erst neu ausarbeiten. Der Zufall wollte es, dass bald darauf auch andere Forscher, anlässlich der in Süd-Afrika ausgebrochenen Epidemie, sich mit der Herstellung eines wirksamen Serums gegen die Rinderpest beschäftigt haben, was uns eine willkommene Bestätigung unserer Beobachtungen war, da wir, in beschränkten Räumen des Institutes für experimentelle Medicin arbeitend, unmöglich über ein grösseres Versuchsmaterial verfügen konnten.

Im Laufe des Jahres 1897 haben wir sowohl von Rindern, wie auch von Ziegen und Schafen, grössere Quantitäten von starkem Serum hergestellt und dessen immunisirende und heilende Wirkung erprobt. Nach erfolgter Einwilligung des Curators des Institutes und Einverständniss mit dem Ministerium des Innern begab sich der eine von uns (W. Wyżnikiewicz), Ende des Jahres 1897, nach dem südlichen Kaukasus, wo die Rinderpest endemisch ist, und es gelang ihm nach kurzer Zeit mit Hülfe des Herrn Ingenieurs A. E. Sesemann, wofür wir ihm zu besonderem Danke verpflichtet sind, und mit Unterstützung der localen Behörden im Gouvernement Tiflis, in einer Gebirgschlucht, 18 Werst von der Kreisstadt Gori in der Ortschaft Iknewi, eine Versuchsstation zu errichten, so dass er schon im Februar 1898 mit dem aus Petersburg mitgebrachten Serum die Immunisationsversuche an einer grösseren Anzahl von Thieren vornehmen konnte. Gleichzeitig wurde ihm die Aufgabe gestellt, auch die von R. Koch empfohlene Schutzimpfung mit Galle pestkranker Thiere nachzucontroliren, da auf Grund unserer Beobachtungen in Petersburg wir, wie es sich auch später zeigte, gerechte Bedenken gegen die praktische Verwendbarkeit dieser Methode hatten. Auch sollten noch die von früheren russischen Forschern wie Jessen, Raupach und Semmer angewandten Schutzimpfungen, namentlich mit

[1]) Ausserdem sind noch folgende diese Frage betreffenden Arbeiten zu erwähnen: Иммунизація животныхъ противъ чумы рогатаго скота и лѣченіе этой болѣзни. Отчетъ коммисіи. Архивъ Ветеринарныхъ наукъ; январь-апрѣль. — Отвѣтъ на статью М. Тартаковскаго: современное состояніе вопроса о предохранительныхъ прививкахъ противъ чумы рогатаго скота, М. Ненцкій. Врачъ (1899), No. 40. — О современномъ состояніи предохранительныхъ прививокъ противъ чумы рогатаго скота, В. Выжникевичъ, С. Петербургъ, 1899.

durch Wärme abgeschwächtem Pestmaterial, bei verbesserter Technik von Neuem erprobt werden. Schon Ende April 1898 konnte Herr Wyżnikiewicz über die vorzüglichen Erfolge der Serumbehandlung berichten. Ende Juli 1898 begaben wir uns ebenfalls nach der Station Iknewi, um gemeinschaftlich diese Untersuchungen fortzusetzen. Im October 1898 kam nach Iknewi eine vom Ministerium des Innern eingesetzte Commission, um das von uns vorgeschlagene Immunisirungsverfahren nachzuprüfen, bestehend aus den Herren: Professor W. E. Worontzow, Vorsitzender im Veterinärcomité des Ministeriums des Innern; Magist. Vet. A. M. Rudenko, Chef der Veterinärabtheilung der medicinischen Militärverwaltung; Magist. Vet. N. I. Ekkert, berathendes Mitglied des Veterinärcomités; Mag. Vet. M. O. Gordziałkowski, Chef des Veterinärlaboratoriums des Ministeriums des Innern; N. N. Krüdner, Gubernialveterinär von Tiflis und M. P. Georginsohn, Gubernialveterinär von Kutais. Am Schlusse eines ausführlichen an das Ministerium des Innern abgestatteten Berichtes vom 10. December 1898 constatirte die Commission, dass die Serumimmunisation gegen die Rinderpest ausser allem Zweifel steht und mit einer Zweidrittel-Majorität empfiehlt sie die sofortige Errichtung einer Station für Herstellung des Serums und die Einführung der Serumimmunisation in den südlichen und östlichen Districten Russlands, wo die Rinderpest von der türkischen, persischen und chinesischen Grenze ständig eingeschleppt wird. Nach unserer Rückkehr nach Petersburg — Ende December 1898 — erhielten wir Kenntniss von der eben erschienenen Arbeit von Kolle und Turner[1]) über die Serumimmunisation in Afrika. Wir werden weiter unten auf diese Publication zurückkommen.

Seit Februar bis Ende des Jahres 1898 wurden auf der Station Iknewi über 800 Thiere: Rinder, Büffel, Ziegen und Schafe, geimpft. Die Thiere wurden gruppenweise in offenen Umzäunungen, hier zu Lande „Bas“ genannt, gehalten. Erst mit Eintritt der kalten Jahreszeit, in der zweiten Hälfte des November und December, wurden die namentlich gegen Kälte sehr empfindlichen Büffel unter Dach, in sogenannten „Bujwoliatniki“ gehalten, ein mit Dach versehener Holzverschlag, dessen Dach und Wände mit Erde bedeckt werden. Das zu den Versuchen verwendete Vieh wurde in den benachbarten Bergdörfern der Osietiner — in welchen seit zwölf Jahren kein Fall von Rinderpest vorgekommen war — angekauft, so dass wir bei unseren Versuchen sicher mit Thieren, die nie etwa früher Pest überstanden hatten, zu thun hatten. In der That, mit Pestblut geimpft oder mit pestkranken Thieren gestellt, sind sie uns immer an Pest erkrankt, und die Mortalität betrug mehr als 96 Proc. Ausser dem Bergvieh hatten wir noch von einem Farmer uns angebotene für die Milchproduction besonders geschätzte Thiere der sogenannten deutschen Rasse, sowie auch in den Grenzdörfern angekauftes türkisches Vieh immunisirt. Die Schafe in Grusien (Juschinskaja paroda) gehören der Fettschwanzrasse (Kurdüki) an, die sich bezüglich der Empfänglichkeit und Verlauf der Pesterkrankung in vielen Punkten von den Merinoschafen, mit denen wir in Petersburg vorwiegend zu thun hatten, unterscheiden. Die Vorraths- sowie die immunisirten Thiere befanden sich etwa fünf Kilometer entfernt in den Bergen, auf der Versuchsstation nur diejenigen, mit denen gerade

[1]) Zeitschrift für Hyg. und Infectionskrankh. **29**, 309.

experimentirt wurde. Wir können indessen die Angabe von R. Koch, dass die Rinderpest nur durch Contact übertragen wird, durchaus bestätigen. Trotz der ausserordentlichen Empfänglichkeit des Rindes können pestkranke und gesunde Thiere in einer offenen Umzäunung nur durch eine Bretterwand, die etwa um einen halben Meter die Kopfhöhe der Thiere überragt, getrennt von einander gehalten werden und zwar Monate lang, ohne dass die gesunden Thiere sich inficiren. Die Hauptbedingung ist, dass die kranken und gesunden Thiere von verschiedenen Wärtern besorgt werden und jede directe Uebertragung, sei es durch Schuhzeug, Kleider und Hände der Wärter, oder durch das Futter, Getränk und dergleichen mehr, ausgeschlossen ist. In Iknewi hatte jede Umzäunung ihren eigenen Wärter. Vor der Eingangsthür befand sich eine Wanne und ein Eimer mit zwei pro mille Sublimatlösung und ein paar hohe Gummischuhe. Das Personal war streng angewiesen, nie anders als wie in Gummischuhen die Umzäunung zu betreten und nach Verlassen derselben Hände und Schuhe gründlich zu desinficiren. Die Körpertemperatur wurde bei allen Thieren Morgens und Abends gemessen und über jedes Thier ausser der Temperatur jeden Tag alles Bemerkenswerthe in ein Buch eingetragen. Für die Blutentnahme und andere Operationen war ein besonderer Raum eingerichtet und die Thiere an einem Gerüste mittelst Flaschenzuges und passender Gürtel horizontal schwebend aufgehängt, welche Vorrichtung sich als sehr zweckmässig erwies. Wir haben bei der Einspritzung von Blut, Galle oder Serum die Thiere nie gefesselt. Streicheln und Zureden genügten meistens, um das Thier zu beruhigen. Höchstens besonders wilde Thiere, wie z. B. junge Büffel, wurden an einen Pfosten kurz angebunden und von Knechten festgehalten. Auf der Station war ein kleines chemisch-bacteriologisches Laboratorium eingerichtet, das allen Anforderungen genügte. Wir hatten allerdings kein Gas und benutzten Spiritus- oder Petroleumlampen. Sehr zweckmässig erwiesen sich dabei die von Sartorius in Göttingen construirten und mit Petroleum heizbaren Thermostaten mit Simplexregulirung.

Im Interesse der Uebersichtlichkeit halten wir es für zweckmässiger, die vielen Versuche, die wir zur Beantwortung der verschiedensten Fragen im Laufe der vier Jahre angestellt haben, nicht einzeln anzuführen. Wir wollen nur möglichst präcise die von uns erprobten Immunisirungsverfahren beschreiben, und im Laufe der Beschreibung unsere mehr theoretischen oder auf die Aetiologie bezüglichen Beobachtungen einschalten. Wir beginnen mit der Beschreibung der Serumimmunisation und gehen dann zu den Gallenimpfungen und Immunisation mit abgeschwächten Culturen über.

Die Gewinnung des Serums gegen die Rinderpest.

Das Antipestserum wird im Körper der Thiere gebildet, die die Pest überstanden und durch fortgesetzte Injectionen virulenten Pestmaterials zu immer weiterer Bildung des Antikörpers angeregt werden. Es ist möglich, dass der Rinderpestmikrobe wasserlösliche Toxine bildet, obgleich unsere darauf bezüglichen Versuche negative Resultate ergeben haben. Aus weiter unten anzugebenden Gründen erachten wir das Schutzserum nicht als antitoxisch, sondern als mikrobicid. Je schwerer die erste Erkrankung war, um so weniger reagirt das Thier auf relativ grössere Mengen des in-

jicirten virulenten Pestmaterials, respective um so mehr hat es bei der ersten Erkrankung von dem Antikörper in seinem Organismus gebildet. Die Erfahrung hat uns auch gezeigt, dass für die Gewinnung des hochwerthigen Serums die für die Pest besonders empfindlichen Rassen vorzugsweise geeignet sind. Wir wählten für diesen Zweck kräftige, gesunde, drei bis fünf Jahre alte Thiere der sogenannten rothen oder deutschen Rasse. Als Impfmaterial benutzen wir ausschliesslich Blut, das auf der Höhe der Krankheit kurz vor Abfall der Temperatur pestkranken Thieren entnommen wurde. Die von uns ermittelten biologischen Eigenschaften des die Rinderpest hervorrufenden Mikroben haben uns die Ueberzeugung beigebracht, dass bei der ausserordentlichen Schwierigkeit, ihn zu cultiviren und bei seiner grossen Empfindlichkeit auch gegen sonst ganz indifferente Mittel, die Herstellung von Culturen von constanter Wirkung vorläufig noch nicht ausführbar ist. Organextracte (von Magen oder Darmschleimhaut, Leber, Milz, Niere u. s. w.) pestkranker Thiere eignen sich für die Impfungen weniger, da sie häufig ausser dem specifischen Pestmikroben noch verschiedene zum Theil pathogene Spaltpilze enthalten.

Die Blutentnahme.

Zum Zwecke der Impfung und Immunisation, sowie zur Gewinnung des Heilserums, ist es nothwendig, Blut in grösseren Quantitäten von lebendigen Thieren zu entnehmen. Uebersichtshalber geben wir hier zunächst die von uns angewendeten Methoden:

a) Zur Entnahme des Blutes von pestkranken Thieren, und b) zur Entnahme des Blutes von immunen Thieren behufs Gewinnung des Serums.

a) Für die mikroskopische Untersuchung des Blutes, oder wenn nur wenige Thiere zu inficiren sind, entnehmen wir das Blut der Ohrvene mittelst einer scharfen Canüle nach erfolgter Desinfection der Ohrmuschel direct in einen kleinen sterilen Messcylinder oder Reagenzglas. Es werden so leicht 5 bis 10 ccm Blut erhalten. Bei der Immunisation im Grossen oder für hoch immune Thiere, wo auf einmal mehrere Liter Pestblut injicirt werden, ist es wünschenswerth, von pestkranken Thieren möglichst alles Blut zu gewinnen. Wir verwendeten stets Blut vom dritten bis fünften Fiebertage, aber wo möglich vor Abfall der Temperatur. Das Thier wurde in dem eben erwähnten Gerüste mittelst Gürtel an dem Flaschenzuge befestigt, in die Höhe gehoben und in solcher hängenden Stellung, unter der Anwendung der Antiseptik, die Jugularvene und die Carotis herauspräparirt; in die Gefässe werden Canülen mit Kautschukschläuchen eingebunden und das Blut wird, Anfangs aus beiden Venen und bei Verlangsamung des Stromes aus den Carotiden, in hohe mit Kautschukkappen versehene sterilisirte Cylinder zu 500 ccm Inhalt aufgefangen. Das aus der Ader fliessende Blut gerinnt bekanntlich bald und ist als solches für subcutane Injectionen nicht geeignet. Durch Schlagen mit einem Quirl, einem Metall- oder Glasstabe, wird es defibrinirt und kann es durch Filtriren durch ein Sieb oder Mousselin frei von Fibrin erhalten werden. Man kann aber das Blut flüssig erhalten durch Auffangen in concentrirter ClNa-lösung und zwar so, dass das

Gemisch 3 Proc. Kochsalz enthält, oder durch Auffangen in eine Lösung von Natriumoxalat, so dass das Gemisch eins pro mille oxalsaures Natrium enthält.

Im ersten Falle giesst man in die Cylinder zu 500 ccm Inhalt 50 ccm kaltgesättigte, sterile Kochsalzlösung, lässt das Blut direct in die Salzlösung fliessen und rührt einige Minuten mit einem Glasstabe um, damit das Salz gleichmässig in der Flüssigkeit vertheilt ist.

Will man das Blut durch Natriumoxalat flüssig erhalten, so werden 10 g neutrales oxalsaures Natron in 400 ccm heissen Wassers gelöst, filtrirt und von der sterilen Lösung für je einen Cylinder von 500 ccm Inhalt 20 ccm der Natriumoxalatlösung verwendet. Es ist zweckmässig, kurz vor dem Auffangen des Blutes durch Neigung des Cylinders die Wände zu benetzen. Auch hier genügen wenige Minuten des Umrührens, um das Blut mit der Oxalatlösung gleichmässig zu vermischen.

Das nach einem von diesen drei Verfahren erhaltene flüssige Blut hat nicht die gleichen Eigenschaften. Das selbst durch halbstündiges Schlagen defibrinirte Blut bildet im Laufe der nächsten Stunden noch immer Gerinnsel, so dass es erneuerter Filtration durch Mousselin bedarf und trotzdem, bei Injectionen grösserer Blutmengen, verstopfen die feinen Gerinnsel die Canüle. Ferner schliesst das entstandene Fibringerinnsel eine grosse Menge rother Blutzellen und damit auch den Pestmikroben ein, wodurch das Blut weniger virulent wird. Auf Grund von Untersuchungen, auf die wir später zurückkommen werden, halten wir dafür, dass in den ersten Fiebertagen der Pestmikrobe nur in den Blutzellen enthalten ist und erst gegen Ende der Erkrankung in das Plasma übergeht. Das durch Kochsalz erhaltene, flüssige Blut ist mehr virulent, auch längere Zeit haltbar, hat aber den Nachtheil, dass Injectionen grösserer Mengen solchen Blutes für die Thiere schmerzhaft sind und an der Injectionsstelle Infiltrate entstehen. Alle diese Uebelstände sind beim Oxalatblut nicht vorhanden, so dass für Injectionen grösserer Blutmengen das in Natriumoxalat aufgefangene Pestblut am geeignetsten ist. Handelt es sich aber um Injection kleiner Blutmengen, wie z. B. bei der Immunisation mit Pestblut und Serum, so ist das im Kochsalz aufgefangene Pestblut vorzuziehen. Die Anweisung, die die Herren Kolle und Turner in ihrer jüngsten Publication[1]) zur Gewinnung des defibrinirten virulenten Blutes für die Farmer geben, lässt jeder fremden Infection Thür und Thor offen. Bei den gegen 800 Impfungen im freien Felde mit Pestblut, das in Kochsalz oder Natriumoxalat aufgefangen wurde, haben wir nie eine fremde Infection gehabt.

b) Blutentnahme von immunisirten Thieren zur Gewinnung des Heilserums.

Wir entnahmen den immunisirten Thieren auf einmal 2 bis 3 Liter Blut. Beim völligen Verbluten liefert ein erwachsenes Rind, von 300 bis 500 Kilo Körpergewicht, 12 bis 15 Liter Blut; ein erwachsenes Schaf 1.5 bis 2 Liter.

Das Blut wurde aus der Jugularvene mittelst eines Troicart entnommen und direct in sterile Cylinder von 500 ccm Inhalt an der Glaswand rasch fliessen gelassen, wobei die Kautschukkappe des Cylinders nur so weit gelüftet wird, um Raum

[1]) Loc. cit., S. 351.

für den Kautschukschlauch zu lassen. Man verschliesst hierauf sofort mit der Kappe und lässt die mit Blut gefüllten Cylinder an einem ruhigen, auf 25 bis 30° erwärmten Orte 24 Stunden lang stehen. Entgegen der gangbaren Vorstellung ist es zweckmässig, speciell für das Rinderblut, damit das Serum sich gut abscheidet, nicht in der Kälte, sondern bei der oben bezeichneten Temperatur stehen zu lassen. Nach 24stündigem Stehen wird das abgeschiedene Serum mit einem Zehntel seines Volums 5proc. Phenollösung versetzt, gut umgeschüttelt und in dunkeln Flaschen an einem kühlen Orte aufbewahrt. Zu dem Blutgerinnsel werden einige Stückchen Campher zugesetzt und bei der oben genannten Temperatur stehen gelassen. Am zweiten bis dritten und vierten Tage presst der Blutkuchen noch etwas Serum heraus, das abgegossen und mit Phenollösung wie oben versetzt wird. Man erhält auf diese Weise aus Rinderblut nie unter 50 Proc. Serum; nach wiederholten Aderlässen, wo das Blut ärmer an morphotischen Bestandtheilen wird, haben wir von immunen Thieren zwischen 60 bis 70 Proc. Serum erhalten.

Auf gleiche Weise wird das Schaf- und Büffelserum gewonnen. Aus Büffelblut scheidet sich das Serum sofort ab und ist seine Menge stets grösser, als aus Rinderblut. Büffelblut giebt 60 bis 75 Proc. Serum. Auch das Schaf- und Ziegenblut scheiden unter den obigen Verhältnissen über 60 Proc. Serum ab. Kolle und Turner (l. c., 347) geben an, durch Gerinnenlassen des Blutes im Durchschnitt nicht mehr als 33 Proc. Serum erhalten zu haben.

Durch Centrifugiren des defibrinirten Blutes hätten sie 76 bis 80 Proc. Serum erhalten, d. h. ungefähr die gleiche Menge, die wir durch Stehenlassen bei 25 bis 30° aus nicht defibrinirtem Blute erhalten haben. Wir haben unser immunes Blut nicht centrifugirt. Bedenkt man aber, dass das Blut zuerst defibrinirt, hiernach centrifugirt wird, so ist das Blut beim einfachen Stehenlassen weniger der Verunreinigung ausgesetzt. Das Zweckmässigste dürfte sein, das immune Blut zur Behinderung der Gerinnung in Natriumoxalatlösung aufzufangen und es dann zu centrifugiren. Im Vacuum bei 35 bis 40° verdunstet, wird das Serum in fester Form erhalten und ist in Wasser langsam, aber vollkommen, mit schwacher Opalescenz, löslich. Ueber die Haltbarkeit des trockenen Serums können wir keine bestimmten Angaben machen, obgleich nach Analogie mit trockenem Diphtherieserum noch eine grössere Haltbarkeit als in flüssigem Zustande zu erwarten ist. Flüssiges Serum gegen die Rinderpest ist über ein Jahr ohne Veränderung haltbar.

Die Gewinnung des Heilserums.

Das zu immunisirende gesunde Thier wird mit 0.2 ccm virulenten Pestblutes inficirt. Durch vielfache Versuche haben wir uns überzeugt, dass 0.2 ccm Pestblut vollkommen genügen, um eine Erkrankung mit letalem Ausgange hervorzurufen. Die Infection mit so geringen Mengen Pestblutes hat den grossen Vortheil, dass die Gefahr der Infection durch andere pathogene Mikroben auf ein Minimum reducirt wird. Zwei Stunden später, also zu einer Zeit, wo man annehmen kann, dass das injicirte Virus sich im ganzen Körper vertheilt hat, erhält das Thier eine derart abgemessene Menge Heilserums, dass es wohl eine schwere Erkrankung bis zur Bildung von

Erosionen und Durchfall durchmacht, jedoch nicht infolge der Erkrankung kachektisch wird. Etwa 10 bis 14 Tage, nachdem das Rind die Krankheit überstanden und sich vollkommen erholt hat, wird es der weiteren Immunisation unterworfen, die auf zwei verschiedene Weisen geschehen kann.

1. Nach dem ersten Verfahren, dass wir als schnelle Immunisation bezeichnen, erhält ein erwachsenes Thier von 300 bis 500 Kilo Körpergewicht, je nach der Schwere der ersten Erkrankung, 500 bis 1500 ccm Pestblut an verschiedenen Körperstellen, worauf es in der Regel am vierten bis sechsten Tage von Neuem mit Temperatursteigerung von 40 bis 41° mehrere Tage reagirt. Zwei bis drei Wochen nach dieser zweiten Injection werden ihm, wenn an den Injectionsstellen keine Infiltrate mehr vorhanden sind, die Temperatur normal ist und das Thier sich sichtlich erholt hat, wiederum drei bis fünf Liter Pestblut injicirt. Reagirt jetzt das Thier nach vier bis acht Tagen nicht mit Temperaturerhöhung, so entnimmt man ihm mittelst Troicart aus der Jugularvene die ersten zwei bis drei Liter Blut, das ein Serum giebt, wovon in der Regel 40 ccm genügen, um 0.2 ccm Pestblut im Thier vollkommen zu neutralisiren. Am gleichen Tage oder einige Tage später injicirt man dem Versuchsthier vier bis sechs Liter Blut, worauf nach erfolgter Erholung von Neuem aus der Jugularvene Blut zur Serumgewinnung entzogen wird. Nun kann die Injection von Pestblut von Neuem beginnen, worauf neue Blutentnahmen u. s. w. folgen.

Mehr als sechs Liter Blut haben wir grossen Thieren bis jetzt nicht injicirt; auch sind die Zeitintervalle für die späteren Injectionen von Pestblut immer grösser. Auf diese Weise wird schon zwei Monate nach der ersten grösseren Bluteinspritzung ein Serum gewonnen, wovon 20 ccm genügen, um nach Infection mit 0.2 ccm Pestblut gesunde Thiere ohne sichtbare Reaction, oder mit kurz dauernder Temperatursteigerung zu immunisiren. Wird die für 0.2 ccm Pestblut genügende Menge Serum selbst wenige Stunden vor der Infection mit Pestblut injicirt, so ist die Immunisation nicht sicher. Injicirt man das Serum später als 3 Stunden, z. B. 6, 12 bis 24 Stunden nach der Infection mit 0.2 ccm Pestblut, so bedarf es, um gleichen Effect zu erzielen, schon grösserer Serummengen. Injicirt man das Serum 2 bis 6 Tage vor der Infection, so erkranken die Thiere schwer und können an der Pest zu Grunde gehen. Werden Rinder mit 0.2 ccm Pestblut inficirt und injicirt man zu gleicher Zeit das Serum, so kommt es vor, dass die Thiere gar nicht reagiren, werden aber nicht immun. Offenbar wird in solchen Fällen der injicirte Mikrobe vollkommen getödtet, resp. unschädlich gemacht. Die Herren Kolle und Turner, welche die gleichzeitige Injection von Virus und Serum empfehlen, injiciren allerdings viel grössere Mengen des Virus, nämlich 1.0 ccm Pestblut. Sie erachten die sogenannte Reaction, d. h. Erkrankung des Thieres, für erwünscht, damit das Thier immun werde. Nach unseren Beobachtungen ist eine sichtbare Erkrankung, damit ein Thier immun werde, durchaus nicht nothwendig und können Thiere hoch immun werden, ohne andere Erkrankung, als wie eine vorübergehende Temperatursteigerung durchgemacht zu haben.

2. Nach dem zweiten Verfahren, das der langsamen Immunisation, ist es nicht durchaus nöthig, dass die Thiere nach der ersten Injection mit 0.2 ccm Pestblut stark reagiren; es genügt, wenn die erste Erkrankung ganz milde verläuft; zwei Wochen

nach der Infection erhält das Thier 1.0 ccm Pestblut; zwei Wochen später 10 ccm; dann alle zwei bis drei Wochen 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 bis 4000 ccm. Erst nach dieser letzten Injection geschieht die erste Blutentnahme, worauf das Thier von Neuem vier bis fünf Liter Pestblut erhält u. s. w. Auf diese Weise erhält man zwar erst nach fünf bis sechs Monaten das erste Serum, wovon aber, je nach der Individualität des Thieres, 10 bis 20 ccm genügen, um nach der Infection mit 0.2 ccm Pestblut ein Thier ohne sichtbare Reaction zu immunisiren.

Der Vortheil dieser Methode liegt darin, dass die Thiere fast reactionslos, nur mit kurzdauernden Temperatursteigerungen, die ganze Immunisirung ertragen, viel längere Zeit für die Serumgewinnung dienen können und ein stärkeres Serum liefern.

Durch besondere Versuche haben wir constatirt, dass von den immunen Thieren das subcutan injicirte Pestblut sehr rasch entgiftet wird; so enthielten z. B. zwei immune Kälber von 90, resp. 120 Kilo Körpergewicht, nach Injection von einem resp. zwei Liter Pestblut, nur in den ersten 12 Stunden in ihrem eigenen Blute den virulenten Pestmikroben, d. h. ihr Blut, in Dosen von 5 bis 15 ccm gesunden erwachsenen Rindern injicirt, hatte eine tödtliche Pesterkrankung zur Folge. 24 Stunden nach subcutaner Injection des Pestblutes war das Blut des immunen Thieres nicht mehr virulent.

Wir hielten es für möglich, dass das Blut immuner Kälber nach der Injection von grösseren Quantitäten Pestblut in verschiedenen Zeitintervallen entnommen und in verschiedenen Quantitäten gesunden Thieren injicirt, die letzteren gegen die Rinderpest immunisiren würde. Wir erwarteten, dass die im lebendigen Körper durch das mikrobicide Serum in den ersten Stunden abgeschwächten Mikroben, gesunden Thieren injicirt, nur eine leichte Erkrankung hervorrufen würden, welche eine Immunität zur Folge haben sollte. Um diese Frage zu entscheiden, wurde folgender Versuch gemacht:

Von den beiden oben genannten Kälbern, die nach dem Verfahren der schnellen Immunisation behandelt wurden und die dritte Pestblutinjection erhalten haben — Kalb, 90 Kilo schwer, erhielt einen Liter, Kalb, 120 Kilo schwer, erhielt drei Liter Pestblut — wurden von Nr. 1, acht Stunden nach der subcutanen Injection des Pestblutes, 100 ccm Blut aus der Jugularvene in gesättigte Chlornatriumlösung entnommen und sofort zwei zweijährigen Kälbern je 5 resp. 10 ccm subcutan injicirt. Am nächsten Tage wurden dem Kalbe Nr. 2 — 120 Kilo schwer — drei Liter Pestblut subcutan injicirt und 12 Stunden später Blut aus der Jugularvene in ClNa-Lösung entnommen und wiederum zwei Kälbern je 5 resp. 10 ccm subcutan injicirt. Alle vier Thiere erkrankten am vierten resp. fünften Tage und starben an der Pest.

Am gleichen Tage, d. h. 24 Stunden nach der Injection des Pestblutes, wurden dem Kalbe Nr. 1 wiederum 100 ccm Blut entnommen und zwei Kühen je 10 resp. 20 ccm subcutan injicirt. Die beiden Thiere erkrankten nicht. Ebenso erkran[illegible]
Thiere nicht, welche das aus der Jugularvene entnommene Blut von immune[illegible]
am zweiten, vierten, fünften und sechsten Tage nach der Injection des Pe[illegible]
Dosen von 10 bis 30 ccm erhalten haben. Alle diese Thiere wurden je[illegible]
immun, denn als sie nach 10, 14, 30 Tagen je 0.2 ccm Pestblut subcutan

erkrankten sie alle schwer und von 22 zu diesem Versuche verwendeten Rindern starben, mit Ausnahme von sechs Thieren, alle übrigen an der Pest.

Bestimmung der Stärke des Serums.

Je nach der Dauer der Immunisation, resp. der Menge des injicirten virulenten Blutes und der Individualität des Thieres, ist der Gehalt an Schutzstoff im Serum immunisirter Thiere verschieden. Aus praktischen Gründen, wie sie sich uns auf der Station in Iknewi ergeben haben, unterscheiden wir ein schwaches, ein mittelstarkes und ein starkes Serum. Als schwaches bezeichnen wir ein solches Serum, wovon 40 bis 50 ccm nothwendig sind, um eine schwere Erkrankung, d. h. Erosionen und Durchfall, zu verhindern nach der Infection eines Thieres mit 0.2 ccm Pestblut, wenn dieses Serum zwei Stunden nach erfolgter Infection dem Thiere subcutan eingespritzt wird. Starkes Serum nennen wir solches, wovon 10 bis 20 ccm genügen, um den gleichen Effect zu erzielen. Bevor wir aber das von uns geübte Verfahren, die Stärke des Antipestserums zu bestimmen, beschreiben, halten wir es für nöthig, einige hierauf bezügliche Beobachtungen vorauszuschicken. Wir sagten schon oben, dass das Serum gegen die Rinderpest nicht antitoxisch, sondern mikrobicid sei. Wir wollen jetzt die von uns experimentell ermittelten Thatsachen, die uns für die Ansicht bestimmten, hier anführen.

Extracte von Organen pestkranker Thiere — drei bis fünf Kilo Leber, Milz, Niere, Muskel, — klein zerhackt und mit doppeltem Volumen physiologischer Salzlösung extrahirt, durch Chamberland'sche Kerzen filtrirt, in Dosen von 300 bis 500 ccm Kälbern und Schafen, auch anderen Thieren, wie Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, unter die Haut eingespritzt, waren ohne jede schädliche Wirkung. Es wäre nun möglich, dass, ähnlich wie z. B. das Abrin, auch das Toxin der Pestmikroben durch Chamberland'sche Kerzen nicht filtrirt, d. h. zurückgehalten wird[1]). Wir haben daher aus dem Pestblute das Plasma von den Blutzellen getrennt und 100 ccm des Plasmas, dem 0.5 Proc. Phenol zugesetzt wurde, einem halbjährigen Kalbe subcutan injicirt. Das Thier vertrug die Injection ohne jede sichtbare Reaction, ohne Temperaturerhöhung und blieb vollkommen gesund bei einer Beobachtungsdauer von drei Wochen. Da die Versuche mit dem Pestplasma auch in anderer Hinsicht von Interesse sind, so wollen wir sie hier ausführlicher beschreiben.

Das Blut von pestkranken Rindern auf der Höhe der Krankheit — Erosionen in der Mundhöhle und beginnender Durchfall — entnommen, gerinnt zu einem ganz festen, zähen Kuchen und scheidet, weder in der Kälte noch bei 25 bis 30°, auch nach fünf- bis sechstägigem Stehen, kein Serum ab.

Wurde das Blut in gesättigter Kochsalz- oder in Oxalatlösung aufgefangen, so blieb es flüssig, aber es erfolgte auch nach sechs Tagen keine Abscheidung von Serum. Die Blutkörperchen senken sich nicht. Auch als das Pestblut defibrinirt und das Gerinnsel entfernt wurde, erstarrte es doch nach 24 Stunden zu einer festen Masse, ohne Serum abzuscheiden. Man kann aber Plasma, allerdings in verdünntem Zustande, ganz frei von morphotischen Elementen auf folgende Weise leicht erhalten:

[1]) De Christmas: Annales Pasteur **11**, 95.

In einen hohen Cylinder von 500 ccm Inhalt giesst man eine Lösung von 15.0 g Kochsalz in 333 ccm Wasser und lässt direct aus der Ader 167 ccm Blut von einem pestkranken Thiere einfliessen, rührt einige Minuten um und lässt bei 25 bis 30° ruhig stehen. In den 500 ccm des Gemisches, das 3 Proc. Kochsalz enthält, senken sich die Blutkörperchen zu Boden, so dass nach 24 Stunden eine obere, etwa 6 cm hohe, durchsichtige, etwas gelb gefärbte Schicht sich darin befindet. Nach zweimal 24 Stunden ist die Schicht doppelt so gross. Sie wird abgehoben und durch einen doppelten, gehärteten, nicht befeuchteten Filter von den darin suspendirten, weissen Blutzellen abfiltrirt. Man kann auch durch Auffangen des Pestblutes in das gleiche Volumen sechsprocentiger Kochsalzlösung ein Plasma, das nur halb mit Salzwasser verdünnt ist, erhalten. Die Menge des oben abgeschiedenen Plasmas ist dann aber nie sehr gross, so dass wir zu unseren Versuchen vorzugsweise das Filtrat, das nur zu einem Drittel aus Plasma bestand, benutzten. Wir wollten zunächst sehen, ob das blutkörperchenfreie Plasma infectiös ist. Wir benutzten zu diesen Versuchen zwei Kühe, die anlässlich eines anderen Versuches als Controle mit 0.2 ccm Pestblut inficirt waren. Die eine der Kühe war schon im Stadium des Temperaturabfalls, und nachdem wir von ihr in oben bezeichneter Weise 500 ccm Blut entnommen hatten, verendete sie 18 Stunden später. Die zweite von den Kühen hatte seit drei Tagen hohe Temperatur und im Momente der Blutentnahme auch bläschenförmige Auflagerungen auf der Lippe, jedoch keinen Durchfall. Sie starb drei Tage nach der Blutentnahme an der Pest. Von der ersten Kuh erhielten zwei Kälber das nach 65 Stunden abgesetzte und durch gehärtete Filter filtrirte Plasma; zwei andere Kälber erhielten dasselbe Plasma, jedoch nicht filtrirt, das also ziemlich viel weisse, aber keine rothe Blutzellen enthielt. Alle vier Kälber erhielten 15 ccm des Filtrates, entsprechend 5 ccm unverdünnten Plasmas. Am fünften Tage erkrankten alle vier Thiere mit Abendtemperaturen von 41.1, 40.7, 41.1 und 41.2°, und starben alle vier bis sechs Tage später. Von der zweiten Kuh, von welcher das Blut im früheren Stadium der Krankheit entnommen wurde, erhielten zwei Kälber 30 Stunden nach der Blutentnahme ebenfalls je 15 ccm des Filtrates = 5 ccm unverdünnten Plasmas, blieben aber gegen unsere Erwartung vollkommen gesund, zeigten nie eine Temperaturerhöhung über die Norm und als sie, zehn Tage nach der Plasmainjection, mit 0.2 ccm Pestblut inficirt wurden, blieben sie ebenfalls gesund. Die Thiere wurden immun.

Bevor wir weitere Consequenzen aus diesen Versuchen ziehen, ist eine Wiederholung derselben nöthig. Für jetzt wollen wir nur hinzufügen, dass ein drittes Kalb 150 ccm des gleichen Filtrates = 50 ccm Plasmas am fünften Tage nach der Blutentnahme subcutan erhielt und ebenfalls vollkommen gesund blieb, was wohl beweist, dass das durch Papier filtrirte Pestplasma keine löslichen giftigen Producte enthielt. Wie die Extracte von Pestorganen und das Pestblut verhält sich auch die Pestgalle. Wird Pestgalle, wovon einige Cubikcentimeter, Kälbern subcutan injicirt, schwere Pesterkrankung mit letalem Ausgange zur Folge haben, durch Chamb[illegible]
Kerze filtrirt, so ist die filtrirte Galle vollkommen unschädlich; übrigen
lente Galle, vor Licht und Wärme geschützt, nach 12 bis 14 Tagen
ein sicheres Zeichen, dass die Virulenz der Galle nicht durch ein [illegible]
durch den Mikroben selbst, der nach dieser Zeit in der Galle abstirb[illegible]

Während die Filtration uns die Abwesenheit eines wasserlöslichen Toxins zeigt, spricht die Einwirkung der verschiedensten Reagentien auf das virulente Pestmaterial dafür, dass es hauptsächlich, wenn nicht ausschliesslich, der Pestmikrobe ist, welcher an Ort und Stelle in den Blutkörperchen und in den zelligen Organen seine deletäre Wirkung ausübt. Sodann zeigt uns die Einwirkung von Reagentien auf virulentes Pestmaterial, dass der Pestmikrobe zu den empfindlichsten und sehr leicht zu vernichtenden Mikroorganismen gehört.

Versetzt man frisches virulentes Pestblut mit etwa dem gleichen Volumen destillirten Wassers, um die rothen Blutzellen zu zerstören, so verliert solches Blut schon nach vier bis fünf Tagen seine Virulenz. Noch auffallender ist das Verhalten des Pestblutes gegen gallensaure Alkalien. Die wässerige Lösung dieser Salze löst ebenfalls die Blutkörperchen auf und zwar in minimum bei einem Salzgehalt von etwa 0.5 Proc. Wird nun frisches virulentes Pestblut mit dem gleichen Volumen einprocentiger Lösung von glycochol- oder taurocholsaurem Natrium geschüttelt, so erfolgt, bei Anwendung des glycocholsauren Salzes, die Auflösung der rothen Blutzellen in wenigen Minuten und wenige bleiben unverändert. Natriumtaurocholat bewirkt die Lösung augenblicklich, obgleich auch hier ein geringer Bodensatz von unzerstörten Blutkörperchen hinterbleibt. Offenbar ist es eine besonders widerstandsfähige Abart der Erythrocyten. — Solches Blut, das also nur 0.5 proc. gallensaures Alkali enthält, verliert sehr rasch seine Virulenz und ist nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur vollkommen ungiftig, so das 10 ccm des Gemisches ohne jeden Schaden einem Rinde injicirt werden können. Wir kommen auf diese Versuche weiter unten noch zurück. Dieses Verhalten des Pestmikroben im Blute spricht einerseits dafür, dass er in den ersten Tagen nach Ausbruch des Fiebers, allem Anscheine nach, nur in den Blutkörperchen enthalten ist und erst später in das Plasma übergeht; andererseits zeigt es uns, wie empfindlich er in seinen Lebensbedingungen ist, da er schon durch Wasser oder durch Zusatz eines neutralen Salzes, wie z. B. des gallensauren Alkalis, geschädigt werden kann.

Die besten Erfolge hatte bis jetzt die Serotherapie da zu verzeichnen, wo es sich um Neutralisation der Toxine handelte, so bei dem Schlangengift und der Diphtherie. Viel weniger sicher und gleichmässig war die Wirkung der Serotherapie da, wo sie in erster Linie mikrobicid, resp. bactericid wirken sollte. Das Serum gegen die Rinderpest übertrifft, wie wir sehen werden, in seiner sicheren Wirkung, sowohl als immunisirendes wie als Heilmittel, das Diphtherieserum und jedenfalls wird es von keinem mikrobiciden Serum übertroffen. Der Grund hiervon ist in erster Linie in der ausserordentlichen Empfindlichkeit und den besonderen Lebensbedingungen des Mikroben der Rinderpest zu suchen.

Es war daher von vornherein nicht zu erwarten, dass die Stärkebestimmung des Antipestserums durch Zusammenmischen von bestimmten Mengen des virulenten Materials und Serums, wie dies z. B. bei dem Diphtherieserum üblich ist, möglich sein wird. Wir haben schon im Frühjahr 1897, in unserer Publication der Berliner klinischen Wochenschrift, Nr. 24 [1]), mitgetheilt, dass virulentes Pestmaterial oder Blut, mit dem

[1]) Dieser Band S. 602.

gleichen oder doppelten Volumen immunen Rinderserums oder Pferdeserums in vitro zusammengemischt, nicht mehr virulent ist und auch nicht immunisirt.

Um die Stärke des Serums gegen die Rinderpest zu bestimmen, haben wir das gleiche Princip, wie bei der Bestimmung der Stärke des Serums gegen Cholera, Typhus oder Streptococcen üblich ist, angewendet. Das von mehreren Thieren gesammelte Serum, die annähernd auf gleiche Weise immunisirt wurden, d. h. ziemlich die gleiche Menge Pestblut erhalten haben, wird zusammengemischt, sodann werden zehn Rinder mit der gleichen Menge, d. h. mit 0.2 ccm desselbes Pestblutes, inficirt und zwei Stunden nach der Injection erhalten je zwei Thiere je 10, 20, 30, 40 und 50 ccm des gemischten Serums. Je nach dem Gehalte an Schutzstoff in demselben erkranken z. B. die Thiere, welche nur 10 ccm Serum erhalten haben und gehen an Pest zu Grunde. Diejenigen, welche 20 ccm erhalten haben, erkranken ziemlich schwer mit Bildung von Erosionen und Durchfall, bleiben aber am Leben. Diejenigen, die 30 ccm erhalten haben, zeigen nur an einem oder zwei Tagen, meistens am fünften bis achten Tage, eine Temperaturerhöhung über 40° ohne weitere Erkrankung. Diejenigen aber, die 40 ccm und darüber Serum bekommen haben, zeigen überhaupt keine sichtbare Reaction. Kolle und Turner, die nach gleichem Principe die Stärke des Serums bestimmten, wählten engere Intervalle, von 5 zu 5 ccm Serum, und benutzten für jede Bestimmung nicht zwei, sondern drei Thiere. Es ist nicht zu leugnen, dass dadurch noch präcisere Bestimmung der Stärke des Serums erreicht wird. Auf diese Weise hat der Praktiker es vollkommen in seiner Hand, den Verlauf der Immunisation zu reguliren. Will er active Immunität ohne jede Erkrankung erzielen, so empfiehlt es sich, entsprechend höhere Dosen zu injiciren. Wir halten die letzte Art der Immunisation als die zweckmässigste. Es wird dadurch:

1. Jede Gefahr einer Verbreitung der Infection durch die Ausscheidungen der Thiere vermieden; 2. was namentlich für die Milchwirthschaft von Bedeutung ist, wird die Milchsecretion nicht im Mindesten beeinflusst. Durch eine Reihe von Versuchen haben wir gefunden, dass, wenn milchende Kühe während der Immunisation fiebern, die Milchsecretion herabgesetzt wird. Sorgt man jedoch, dass während der Krankheit die Thiere regelmässig gemolken werden, so verlieren selbst schwer an der Pest erkrankte Kühe nicht vollkommen die Milch und nach Ablauf des Fiebers und vollkommener Erholung kehrt die Milchsecretion auf das ursprüngliche Quantum zurück; und 3. trächtige Thiere abortiren nicht, was bei Kühen, die in Folge der Immunisation stark erkranken, sehr häufig der Fall ist.

Die Serumimmunisation.

Mittelst Serums können die für Rinderpest empfänglichen Thiere auf dreierlei Weise immunisirt werden: 1. Mit Serum allein, 2. mit Serum und Pestblut, und 3. durch Serum nach der Infection mit Pestblut und erfolgter Erkrankung am e bis dritten Fiebertage.

1. Immunisation mit Serum allein.

Dass das Serum von Thieren, die die Rinderpest überstanden haben, in sirende Eigenschaften hat, davon haben wir uns schon gleich beim Beginn u

Untersuchungen überzeugt. Im Februar 1896 haben wir mittelst Schafserums eine Färse immunisirt, welche seither oftmals Pestmaterial resp. Pestblut erhielt und von der wir auch das erste starke Serum bekamen und uns überzeugten, dass fortgesetzte Injectionen steigender Dosen virulenten Pestblutes die Stärke des Serums erhöhen. Anfangs, als wir noch mit schwachem Serum arbeiteten, fanden wir, dass davon zur Immunisirung von ein- bis zweijährigen Kälbern mindestens 200 ccm nothwendig sind. Als wir später ein Serum erhielten, wovon 20 ccm nach der Infection mit 0.2 ccm virulenten Blutes genügten, um ein erwachsenes Rind reactionslos zu immunisiren, fanden wir, dass die Injection von 50 ccm solchen Serums allein zur Immunisation erwachsener Thiere genügte. Die Immunität beginnt acht Tage nach erfolgter Seruminjection. Durch besondere Versuche haben wir constatirt, dass am dritten, vierten und fünften Tage nach der Seruminjection die Thiere, in Contact mit pestkranken Thieren gebracht, ebenfalls an der Pest erkrankten. Wir sahen ferner, dass, je grösser die Serumdosis, um so sicherer und dauerhafter die erworbene Immunität ist. Nach Dosen von 50 ccm starken Serums zeigten von 18 Thieren drei Stück, drei Wochen später in Contact mit pestkranken Thieren gebracht, Temperaturerhöhung bis 41°, so dass ihnen nachträglich noch Serum injicirt werden musste, während zehn Thiere, die 150 ccm von gleichem Serum erhielten, in Contact mit kranken Thieren gelassen, bei einer Beobachtungsdauer von drei Monaten gesund blieben, und als sie hierauf durch Injection von 0.5 ccm Pestblut geprüft wurden, reagirten sie gar nicht. Wir würden daher zur Immunisation mit Serum allein als Injection für ein erwachsenes Thier von 300 Kilo Körpergewicht eine Dosis von 150 ccm starken Serums für genügend erachten, um ihm auf drei bis vier Monate Immunität zu verleihen. Wir haben die Dauer solcher Immunität nicht genau bestimmt. Möglich ist es, dass sie ein halbes Jahr und darüber anhält. Speciell angestellte Versuche werden uns in der nächsten Zeit hierüber Aufklärung verschaffen.

2. Immunisation mit Pestblut und Serum.

Bei der Prüfung der Frage, in welchem Zeitpunkt nach erfolgter Infection, resp. Erkrankung, das Antipestserum die beste, heilende Wirkung entfaltet, fanden wir, dass, je später die Serumbehandlung begann, um so grössere Quantitäten davon nöthig wurden. Kolle und Turner, welche die gleiche Beobachtung machten, injiciren daher gleichzeitig das virulente Pestmaterial und das Serum, indem sie nur die Regel beobachten, dass die beiden Injectionen an nicht zu nahen Stellen des Körpers geschehen. Wir ziehen es vor, zuerst das Pestmaterial und wenige Stunden darauf, wo man annehmen kann, dass das injicirte Virus im ganzen Körper verbreitet ist, erst dann das Serum zu injiciren. Gewöhnlich machen wir die Seruminjection zwei Stunden später.

Hat man z. B. 100 Stück Rinder zu immunisiren, so beginnen wir mit der Bluteinspritzung, welche Operation für 100 Stück etwa zwei Stunden in Anspruch nimmt, und hierauf die Seruminjectionen an einer anderen Körperstelle, so dass die Immunisation von 100 Stück in etwa vier Stunden beendet ist. Die Haare an der Injectionsstelle werden geschoren und die Haut gründlich desinficirt. Grosses Gewicht

ist darauf zu legen, dass das injicirte Pestblut frei von Spaltpilzen und anderen Mikroben ist. Am zweckmässigsten wird dazu Blut aus der Jugularvene in gesättigte Kochsalzlösung (ein Theil Salz, neun Theile Blut) und zwar von einem pestkranken Kalbe am dritten Fiebertage entnommen. Es ist für die afrikanischen Verhältnisse recht charakteristisch, wenn die Herren Kolle und Turner das zur Infection nöthige Blut in ihren Instructionen den Farmer selbst entnehmen lassen und, um das Pestmaterial zu versenden, pestkranke Schafe oder Kälber auf weite Strecken hin verschicken. In Russland würde ein solches Verfahren von den Sanitätsbehörden streng bestraft werden. Um Pestvirus zu verschicken, ist es nach unseren Beobachtungen am zweckmässigsten, Pestorgane und speciell Labmagen, Zungenwurzel und Milz mit 10 proc. Kochsalzlösung abzuwaschen und in einer weithalsigen Flasche mit eingeschliffenem Stöpsel mit 10 proc. Kochsalzlösung derart zu übergiessen, dass das Gefäss voll ist und, in einer Blechbüchse verpackt, zu verschicken. Wir haben so in Petersburg zu jeder Jahreszeit, nach einem bis drei Monaten, stets virulentes Material erhalten. Die herausgenommenen Organe werden klein zerhackt, mit Salzwasser zu einem Brei angerührt, durch Mousselin filtrirt und einem Kalbe injicirt. Zweckmässig wird ein zweites Kalb zu dem inficirten gestellt, das durch Contact erkrankt, und von welchem das Blut direct zu Schutzimpfungen verwendet werden kann. Ist die Stärke des Antipestserums genau bekannt, so hängt es von der Wahl des Praktikers ab, wie er, nach erfolgter Impfung von 0.2 ccm Pestblut, den Verlauf des Immunisationsprocesses reguliren will, d. h. ob die darauffolgende Reaction eine mehr oder weniger schwere Erkrankung offenbaren soll. Aus verschiedenen Gründen haben wir es vorgezogen, lieber eine stärkere Serumdosis zu geben und die Reaction so weit zu mässigen, dass sie entweder gar nicht bemerkbar wird, oder höchstens fünf bis acht Tage nach der Impfung sich durch eine kurzdauernde Temperatursteigerung documentirt. In Gegenden, wo die Rinderpest endemisch ist, herrscht die Ansicht, dass ein Rind, das die Pest überstanden hat, um so widerstandsfähiger gegen eine neue Infection ist, je schwerer die erste Erkrankung war. Uns wurde von Viehbesitzern und Veterinärärzten versichert, dass ein Rind, das eine schwere Erkrankung durchgemacht hat, mindestens für sieben Jahre, vielleicht auch für das ganze Leben immun sei. Danach sollte man denken, dass auch bei der künstlichen Immunisation, damit die Immunität möglichst lange Zeit andauere, eine recht schwere Erkrankung erwünscht sei. Wie lange aber die Immunität anhält, wenn die Thiere activ immunisirt werden, wissen wir mit Bestimmtheit nicht. Auch das ist fraglich, ob eine relativ schwere Erkrankung nothwendig ist, um eine langdauernde Immunität zu erzielen. Einzelne von uns gemachte Beobachtungen sprechen durchaus nicht dafür, dass eine Jahre lang anhaltende Immunität gegen die Rinderpest nothwendig durch eine schwere Erkrankung erkauft werden muss. Wir haben aus den Organen pestkranker Thiere auch Amöben und Flagellaten isolirt, und es war von Interesse zu ermitteln, ob die isolirten Amöben — es waren die Amoeba colli und Amoeba guttula —
irgend einer Beziehung zu der Pesterkrankung stünden. Unsere Versuc
dass die von uns isolirten Amöben für die Wiederkäuer nicht pathogen
haben jedoch einige Male nach Injection von Amöbenculturen bei K
Ziegen Rinderpest auftreten sehen. Wir haben uns den Befund so erklär

Amöben auch den Mikroben der Rinderpest, gleich wie die Bacterien, in ihre Leibessubstanz aufnehmen und sie abschwächen, wodurch die Immunisation zu Stande kommt. Das Interessanteste an diesen Versuchen war aber, dass die Thiere ohne jede Temperaturerhöhung immun wurden, auf wiederholte Injectionen von virulentem Pestmaterial ebenfalls nicht einmal mit Temperaturerhöhung reagirten, durch fortgesetzte Injection des Pestblutes hoch immun wurden und ein starkes Serum lieferten. Es ist ein Factum, das wir seither wiederholt bestätigten, dass durch langsame Steigerung des Pestvirus Rinder ohne jede sichtbare Erkrankung hoch immunisirt werden können. Giebt man den Thieren nach erfolgter Infection mit Pestblut so viel Serum, dass sie höchstens mit vorübergehender Steigerung der Temperatur reagiren, so werden dadurch folgende wesentliche Vortheile erreicht:

1. Die Mortalität wird bei der Impfung auf Null reducirt.

2. Die Gefahr einer Verbreitung der Pest durch die Dejectionen der immunisirten Thiere ist beseitigt, ein Umstand, der bei der Ausführung der Immunisation auf einzelnen Bauern- oder Gutshöfen, wo die Desinfection für die Länge nie streng durchgeführt wird, sehr hoch angeschlagen werden muss.

3. Wir haben bei Jungvieh (Kälbern, von saugenden bis zu zweijährigen inclusive), wenn es nach der Pestimpfung nur schwache Serumdosis erhielt, eine eigenthümliche Hauterkrankung beobachtet, über deren Natur wir nicht vollkommen im Klaren sind, die wir aber, auf Grund verschiedener Versuche, als eine Hautform der Pesterkrankung erachten. Die Thiere erkranken mit hohem Fieber, bis 41° und darüber; die Haut ist stark infiltrirt, bretthart und schmerzhaft. Nach drei bis vier Tagen lässt die Anschwellung nach und es bilden sich darauf an der äusseren Haut Pusteln, mit wenig eitrig-seröser Flüssigkeit gefüllt, welche vertrocknen und platzen, so dass die Haut mit Rissen und Borken bedeckt wird. Der ganze Process zieht sich zwei bis sechs Wochen lang hin. Mit Vorliebe ergreift die Erkrankung die nicht behaarten Stellen, so an Genitalien, am Euter, an der unteren Bauchfläche; doch werden auch die Schenkel, der Hals und der ganze Rumpf ergriffen. Wir haben mit Erfolg diese Hautaffection mit einer Auflösung von Phenol oder Parachlorphenol in Ligroin nach vorherigem Abwaschen der Haut mit Seifenwasser behandelt. Bei Anwendung grösserer Serumdosen haben wir das Auftreten dieser unerwünschten und langwierigen Complication nicht gesehen.

Es ist eine Frage, die erst durch längere Beobachtungsdauer entschieden werden kann, ob die Immunisation ohne jede derartige Erkrankung von kurzer Dauer ist, dass es zweckmässiger sein würde, lieber die Thiere krank werden zu lassen. Um sicher vorzugehen, haben wir zehn Tage nach erfolgter Immunisation den Thieren, die keine sichtbare Reaction zeigten, 0.2 bis 0.5 ccm Pestblut allein injicirt in der doppelten Absicht, einerseits, uns zu überzeugen, dass die Thiere wirklich immun sind, andererseits, um die Immunität zu festigen. Auf die zweite Virusinjection reagirten die Thiere fünf bis zehn Tage darauf nur ausnahmsweise mit einer Temperaturerhöhung, blieben aber ganz gesund. Wir geben dieser Immunisation, selbst mit nochmaliger Injection von Pestblut allein, vor der Immunisation mit Erkrankung der Thiere, die wir Anfangs auch prakticirten, bis wir die Vortheile der Immunisation ohne Erkrankung erkannt haben, den Vorzug. Von den von uns immunisirten

Thieren wurden 335 Stück (273 Rinder, 20 Büffel, 22 Schafe und 20 Ziegen) von der Regierung an Klöster und Private verschenkt, mit der Bedingung, dass die Thiere in den nächsten drei Jahren nicht getödtet würden und unter der Aufsicht der Regierungsveterinäre verblieben. Dadurch haben wir die Möglichkeit gesichert, die Dauer der Immunisation zu erfahren. Wieviel Serum injicirt werden soll, um Immunität ohne jede Erkrankung zu erzielen, ergiebt jedesmal die vorher ermittelte Stärke des Serums für ein Thier von mittlerem Körpergewicht, doch sind dabei noch verschiedene Factoren zu berücksichtigen. Im Allgemeinen, je empfindlicher die Rasse, um so grösser ist die Menge des zu injicirenden Serums; für einjährige Kälber ist die Serumdosis etwa halb so gross, wie für erwachsene Thiere von drei bis sechs Jahren. Grossen Thieren von 500 Kilo und darüber Körpergewicht ist entsprechend mehr Serum einzuspritzen. Nach unseren Beobachtungen ist das günstigste Alter für die Immunisation zwischen zwei bis sechs Jahren. Ueber zehn Jahre alte Thiere machen schwerer die Immunisation durch und sind auch hier grössere Serumdosen anzuwenden.

3. Die Serumbehandlung nach erfolgter Erkrankung.

Wie schon Kolle gesehen hat, kann das Serum an dem ersten bis dritten Fiebertage Rinderpest heilen. Am vierten und fünften Fiebertage ist der Heilerfolg nicht mehr sicher. Auf Grund unserer Beobachtungen können wir diese Angabe durchaus bestätigen, und die Heilwirkung des Serums könnte auch als eine besondere Variation der Immunisirung verwendet werden, zumal die dadurch erlangte Immunität eine sehr sichere ist, wenn nicht zwei wesentliche Nachtheile ein derartiges Immunisirungsverfahren für die Praxis im Grossen weniger geeignet machten. Es ist erstens wünschenswerth, gleich nach erfolgter Erkrankung, wo möglich am ersten Fiebertage, das Serum zu injiciren; dabei muss, um sicher Heilung zu erzielen, die Menge des zu injicirenden Serums fünf- bis zehnmal grösser sein, wie dies bei der Immunisirung nach erfolgter Infection mit 0.2 ccm Pestblut nöthig ist; sodann aber erkranken die Thiere, je nach ihrer Individualität, Rasse und Alter, nie gleichmässig. Wir haben z. B. zehn Stück Rinder im Alter von drei bis sechs Jahren mit 0.2 ccm Pestblut inficirt. Neun von den Thieren erkrankten am fünften Tage mit der Temperatur von 40.4 bis $41,6^0$, und nur eine fünfjährige Kuh erkrankte erst am achten Tage. Alle Thiere erhielten am zweiten Fiebertage, je nach dem Körpergewicht, von 100 bis 200 ccm Serum, wovon 30 ccm nach Infection mit 0.2 ccm Pestblut eine sichtbare Erkrankung paralysirten. Sieben von diesen Thieren hatten nur während der nächsten drei Tage eine Temperatur über 40^0, etwas verringerten Appetit, sonst aber keine weitere Krankheitserscheinungen und hatten sich am fünften Krankheitstage vollkommen erholt. Die Kuh, die am achten Tage Abends eine Temperatur von 40.9^0 und Morgens eine Temperatur von 40.7^0 zeigte, erholte sich nach der Seruminjection sofort. Zwei von den Thieren, fünfjährige Ochsen, die 200 ccm Serum erhi zeigten Erosionen an den Lippen, Mangel an Appetit und erst vier Tage n Seruminjection normale Temperatur. Bei einem dritten Ochsen, der 200 ccm Serum erhielt, war nur die Maulschleimhaut hyperämis Tage lang vollkommene Appetitlosigkeit und zwei Tage lang I

später, als alle Thiere vollkommen gesund waren, erhielten sie je 1.0 ccm Pestblut, worauf sie gar nicht reagirten. Da, wo es sich um Heilung nach bereits erfolgter Erkrankung handelt, ist die Heilwirkung des Serums von unschätzbarem Werthe, edoch nur da, wo durch genaue Temperaturmessungen die beginnende Krankheit constatirt wird. Sicher kann man auf den Heilerfolg des Serums in den zwei ersten Fiebertagen rechnen. In der Praxis auf den einzelnen Bauerhöfen, wo keine Temperaturmessungen vorgenommen werden, ist das Resultat, wie zu erwarten, durchaus nicht so günstig. Wir erhielten z. B. auf der Station Iknewi die Nachricht, dass nicht weit von der Stadt Gori in einem Bauerhofe Rinderpest ausgebrochen sei. Wir begaben uns sofort dahin und constatirten bei sechs Rindern die Pest. Von den sechs Stück zeigte ein zweijähriges Kalb nur Temperatur von 41.1°, sonst nichts, bei den übrigen waren ausser hoher Temperatur bereits massenhaft punktförmige Bläschen und starke Hyperämie in der Mundhöhle vorhanden. Wir unterwarfen vier von den Thieren der Serumbehandlung, die zwei übrigen wurden als Controle nicht behandelt. Von diesen letzten verendete das eine vier Tage später an der Rinderpest; das zweite Thier, nachdem es eine schwere Form der Pest durchgemacht hatte, wurde nach zweimonatlicher Krankheit gesund. Von den vier mit Serum behandelten Thieren starb eine Kuh am sechsten Tage an der Pest. Die drei übrigen, obgleich sie sämmtlich schwer krank wurden, Erosionen und Durchfall hatten, erholten sich vollkommen. Wo es sich also um einen sicheren Heileffect handelt, ist es am besten, gleich auf einmal eine grössere Serumdosis zu geben.

Wir halten es für sehr wahrscheinlich, dass es durch fortgesetzte Untersuchungen gelingen wird, ein noch stärkeres Serum zu erhalten, und dann wird es vielleicht zweckmässig sein, die Rinder nach erfolgter Erkrankung zu immunisiren. Nach längerer Vorbehandlung mit Heilserum und erst hierauf folgender Injection des Toxins, oder durch gleichzeitige Injection von Toxin und auf der anderen Körperseite von Antitoxin, ist es Herrn Nikanorow[1]) in unserem Laboratorium gelungen, ein hochwerthiges Serum gegen die Diphtherie zu erhalten. Auf der mit unserem Laboratorium verbundenen Abtheilung für Herstellung der Heilsera, welche unter Leitung des Herrn Dr. Dzierzgowski steht, werden die Pferde durch gleichzeitige Injection des Toxins und auf der anderen Körperseite mit Heilserum immunisirt. Die Stärke des jetzt erhaltenen Heilserums gegen Diphtherie schwankt zwischen 200 bis 600 Einheiten in einem Cubikcentimeter, und es wird kein schwächeres Serum vom Institute abgegeben. Aehnlich geleitete Immunisation wird vielleicht bei der Rinderpest ebenso günstige Resultate liefern. Zwei Thiere, die wir auf diese Weise immunisirt haben, lieferten uns ein vorzügliches Serum, wovon 15 ccm zur Immunisation genügten, und vielleicht würde das Serum beim Fortsetzen dieses Verfahrens noch stärker sein. Weitere Versuche nach dieser Richtung hin sind im Gange.

Obgleich die Herren Kolle und Turner vor uns die Thatsache publicirten, dass durch fortgesetzte Injectionen von Pestblut in steigenden Dosen ein Serum erhalten wird, das 10- bis 20mal stärker als das Serum nach einfach überstandener Krankheit ist, möchten wir hier nochmals betonen, dass wir, ohne Kenntniss von

[1]) Berliner klinische Wochenschrift 1897, Nr. 33. — Dieser Band S. 614.

der Arbeit von Kolle und Turner, im Sommer 1897 ebenfalls fanden, dass durch steigende Dosen virulenten Pestblutes der Gehalt an mikrobicider Substanz im Serum immunisirter Rinder bedeutend zunimmt. Im November 1897 haben wir 18 Liter Serum nach vier- bis fünfmaliger Injection von grossen Pestblutdosen bereitet, und im December des gleichen Jahres reiste der eine von uns (Wyżnikiewicz) damit nach Transkaukasien, um dort die Immunisation im grossen Maassstabe vorzunehmen. Die erste Publication von Kolle und Turner erschien in der Deutschen Medicin. Wochenschrift, Nr. 50 und 51, vom 9. und 16. December 1897. Unstreitig aber waren wir die ersten, welche constatirten, dass Serum von Pestthieren, gesunden Rindern injicirt, Immunität verleiht, so dass sie, hiernach mit virulentem Pestmaterial inficirt, gesund bleiben. Unsere erste Mittheilung darüber erschien im Juliheft im Jahre 1896 des Russischen Archivs der Veterinärwissenschaften und in deutscher Sprache in der Berliner klinischen Wochenschrift Nr. 24 im Mai 1897. Ein Jahr vor uns publicirte E. Semmer seine Mittheilung: „Zur Frage über die Aetiologie und Bekämpfung der Rinderpest", worin er wörtlich Folgendes sagt: „Durch subcutane Application von Blutserum und Milch immunisirter Rinder und von Pferdeblutserum wird die Empfänglichkeit für Rinderpest nur auf einige Zeit abgeschwächt, aber nicht dauernd aufgehoben."

Die Immunisation der Büffel, Ziegen und Schafe.

Als Zug- und überhaupt als Arbeitsthiere werden im Kaukasus die Büffel viel höher als die Ochsen geschätzt. Sie erkranken ebenfalls und unter gleichen Symptomen an der Pest, wie die Rinder, und die durch die Krankheit verursachten Verluste sind für die Bevölkerung besonders empfindlich, da der Preis eines Büffels doppelt so hoch ist, als der eines Ochsen. Nach unseren Beobachtungen sind die Büffel gegen die Rinderpest weniger empfindlich als das Rind und daher auch leichter zu immunisiren. Das Immunisationsverfahren ist genau dasselbe wie beim Rind und ebenso wird das hochwerthige Serum durch Injectionen von immer grösseren Dosen von Pestblut auch von Büffeln gewonnen. Büffel würden sich demnach ganz besonders für Herstellung des Serums eignen, da aus ihrem Blute, fast noch besser wie aus dem Pferdeblute, die Blutkörperchen sich zu Boden senken und mehr wie 50 Proc. Serum erhalten werden kann. Leider hat das Serum hoch immunisirter Büffel den Uebelstand, dass es für Rinder bei subcutaner Injection giftig ist, was um so bemerkenswerther ist, als das Serum normaler gesunder Büffel diese Giftigkeit nicht hat. 50 ccm Serum vom hoch immunen Büffel, einem Kalbe von drei bis vier Monaten subcutan injicirt, bewirkt eine bedeutende Temperaturerhöhung bis auf 41° und Vergiftungssymptome, wie wir sie bei der acuten Anämie beobachteten. Unter zunehmender Schwäche kann der Tod am dritten oder vierten Tage erfolgen. Das Serum von hoch immunen Büffeln kann daher nur für Büffel, Schafe und Ziegen verwendet werden, da es für die zwei letzten Thierspecies, auffallender Weise, nicht die gleiche giftige Wirkung wie für die Rinder hat. Wir haben vor, Analysen von normalem und hoch immunem Büffelblute auszuführen, um Aufschluss über diese interessante Differenz zu erhalten.

Auf gleiche Weise können auch Ziegen und Schafe, die, wie bekannt, an Rinderpest erkranken, fast ohne Verlust immunisirt werden. Wir inficirten sie ebenfalls mit 0.2 ccm Pestblut und spritzten zwei Stunden später eine halb so grosse Menge Serum ein, wie sie zur Immunisation zweijähriger Kälber erforderlich war. Ziegen und Schafe, namentlich die Fettschwanzschafe, sind für die Rinderpest noch weniger empfänglich als die Büffel. Schon aus diesem Grunde, entgegen unserer ersten Beobachtung mit den Merinoschafen, dann aber auch wegen ihrer Körpergrösse und in Folge dessen wegen der geringen Menge erhältlichen Blutes, sind diese kleineren Thiere für die Hochimmunisation wenig geeignet. Die Fettschwanzschafe in Transkaukasien verhalten sich gegen das Contagium der Rinderpest in mancher Hinsicht anders als die Merinoschafe, mit denen wir in Petersburg arbeiteten. Während bei den letzten die Erkrankung ziemlich typisch mit hohem Fieber am fünften Incubationstage erfolgt, erkranken die Fettschwanzschafe häufig ohne jede Temperaturerhöhung; ebenso können Erosionen auf den Lippen und in der Mundhöhle, Durchfall und dergleichen mehr gänzlich fehlen. Die Incubationszeit ist öfters bedeutend länger, so dass die Schafe erst drei Wochen nach erfolgter Infection erkranken. Das einzig sichtbare Zeichen, wodurch sich ein krankes Schaf vom gesunden unterscheidet, ist Traurigkeit und Mangel an Appetit. Dabei können viele Thiere zu Grunde gehen. Bei der Section an Pest verendeter Fettschwanzschafe ist das Bild ebenso wenig charakteristisch. In der Maulhöhle können Exsudate und Erosionen gänzlich fehlen. Am häufigsten sind sie noch an der Zungenwurzel zu finden. Auch im Labmagen sind Hyperämie, Blutungen und Erosionen nicht immer constant. Charakteristisch sind nur die im Dünndarme nie fehlenden typischen Veränderungen der Plaques de Peyer. Blutungen und Erosionen können auch hier gänzlich fehlen.

Auf Wunsch des Chefs der Veterinärverwaltung in Russland, Herrn N. P. Pestisch, wurden in Iknewi auch Versuche über die Empfänglichkeit der Kameele gegen Rinderpest angestellt. Drei erwachsene Kameele erhielten von einem pestkranken Kalbe je 1, 5 und 10 ccm Pestblut subcutan. Das Controlkalb starb zwei Tage nach der Blutentnahme an der Pest. Das Kameel, das 1 ccm Pestblut erhielt, blieb bei einer Beobachtungsdauer von zwei Monaten gesund. Die beiden anderen Thiere zeigten am fünften und sechsten Tage eine Temperaturerhöhung von 39.8 bis 40.4° resp. 40.0 bis 40.5°, Hyperämie in der Mundhöhle, keine Bläschen, kein Exsudat oder Erosionen. Am siebenten und achten Tage fiel die Temperatur ab und die Hyperämie verschwand. Von da ab waren die Thiere ganz normal, bis unerwarteter Weise das Thier, das 5 ccm Pestblut erhielt, nachdem es noch am Abend mit Appetit gefressen und normale Kothentleerungen hatte, in der Nacht plötzlich starb, genau drei Wochen nach der Infection.

Bei der Section fanden wir an der Unterlippe und den Seitenflächen der Zunge einige oberflächliche Defecte. Die Schleimhaut des Labmagens an der Portio pylorica zeigt in grosser Menge graugelbliche, käseartige Auflagerungen und Erosionen; das Gleiche ist auch im oberen Theil des Duodenums. Die Peyer'schen Drüsen im Dünndarm sind geröthet, geschwollen, theilweise siebartig; im Dickdarm nichts Abnormes, ebenso in den Nieren und der Milz. Die Lungen sind hyperämisch und ödematös.

Mit dem Herzblute des verendeten Kameels wurden gleich nach der Section drei gesunde Kälber mit 1, 2 resp. 5 ccm inficirt. Alle drei Kälber blieben gesund, zeigten überhaupt keine Temperaturerhöhung und wurden nach Ablauf von vier Wochen für andere Zwecke verwendet.

Aus diesem Versuche geht so viel hervor, dass, wenn auch die Kameele an einer abortiven Form der Pest erkranken, sie schwerlich als Ursache der Pestverbreitung angesehen werden können.

Da das Pferdeblutserum, mit Extracten von Pestorganen oder Pestblut in vitro zusammengemischt, nach 24- bis 48 stündigem Stehen die Virulenz der letzteren aufhebt, so haben wir einem Pferde pesthaltige Extracte oder Pestblut subcutan injicirt und nach ein bis zwei Tagen von den infiltrirten Stellen die seröse Flüssigkeit entnommen und sie Kälbern injicirt. Die Thiere blieben gesund, wurden aber nicht immun. Gleiche Versuche, an Schweinen angestellt, ergaben dasselbe Resultat. Zu bemerken wäre nur, dass weder die Pferde noch die Schweine an Pest erkrankten.

Immunisation mit Galle.

Wie R. Koch in seinen Reiseberichten mittheilt, hat er, angeregt durch die im Oranje-Freistaat von den Farmern prakticirte Verwendung von Galle und Blut von pestkranken Thieren zur Schutzimpfung, Galle von an Pest verstorbenen Thieren gesunden Thieren subcutan injicirt und bei fortgesetzten Versuchen gefunden, dass Injectionen von 10 ccm solcher Galle gesunden Thieren eine Immunität gegen die natürliche Ansteckung mit Rinderpest für eine Zeitdauer von vier bis fünf Monaten verleiht. Die Immunität tritt am siebenten bis zehnten Tage ein und sei so beträchtlich, dass einem Thiere vier Wochen nach der Galleninjection 40 ccm Pestblut injicirt werden konnten, ohne im Geringsten zu schaden (R. Koch, Reiseberichte, S. 10, 23 bis 27). Die Anfangs von R. Koch benutzte Galle stammte von einem Thiere, welches am Tage vor der Injection auf der Experimentalstation nach sechstägiger Krankheit an Rinderpest gestorben war; dieselbe hatte eine dunkelgrüne Farbe, war fast klar und hatte denselben Geruch wie die Galle von einem gesunden, eben geschlachteten Thiere. Nach einer späteren Mittheilung der Forscher in Afrika ist es vortheilhafter, Galle von pestkranken Thieren, die nach Abfall der Temperatur getödtet wurden, jedenfalls nicht vor dem fünften bis sechsten Tage des Fiebers zu verwenden.

Wir haben in den Jahren 1895—1896, also lange vor den Versuchen R. Koch's, Galle von an Pest verstorbenen Kälbern gesunden Kälbern in Dosen von 2 bis 5 ccm subcutan injicirt und in acht Versuchen auf solche Galleninjection stets den Tod der Thiere an Rinderpest gesehen. Selbst als wir Culturen aus Galle auf Mucin oder Peptonsalz subcutan injicirten, sind sie an typischer Pest zu Grunde gegangen. Erst Galle, die zwei Wochen lang nach dem Tode des Thieres bei Zimmertemperatur aufbewahrt und hierauf gesunden Kälbern injicirt wurde, erwies sich als unwirksam. Solche Galle hatte aber auch keine immunisirenden Eigenschaften. Kälber, die mit zwei Wochen alter Galle inficirt wurden, blieben zwar gesund, einen Monat später aber, mit pestkranken Kälbern zusammengestellt, erkrankten sie ebenfalls und gingen

an Pest zu Grunde. Als wir Galle von pestkranken Thieren centrifugirten, erwies sich nicht allein der Bodensatz, sondern auch die obere klare Schicht als virulent.

Wir haben auf der Station Iknewi an mehr als 200 Stück Rindvieh die Gallenimpfungen, genau nach der Vorschrift von R. Koch, sowie mit verschiedenen Modificationen ausgeführt und sind zu folgenden Ergebnissen gelangt: 1. Grüngefärbte Galle am fünften bis siebenten Fiebertage von Thieren, die durch Verblutung getödtet wurden, entnommen, auch wenn die Schleimhaut der Gallenblase mit Erosionen bedeckt ist, ist zu der Impfung am geeignetsten und kann bei Rindern, in Dosen von 10 ccm subcutan injicirt, ohne jede auffällige Temperaturerhöhung oder Erkrankung, eine passive Immunität von einer Dauer von drei bis fünf Monaten hervorrufen, d. h. die Thiere mit pestkranken Thieren zusammengebracht, erkranken während dieser Zeitdauer an der Pest nicht. 2. Gelb oder blutigroth gefärbte Galle wird bei Thieren, die an Pest gestorben sind, in mehr als zwei Drittel der Fälle gefunden. Solche Galle ist für die Immunisation nicht geeignet, da sie, gesunden Thieren injicirt, in den meisten Fällen eine schwere Erkrankung mit tödtlichem Ausgange hervorruft. Ueberhaupt ist die Immunisation mit Galle keine genügend sichere, da selbst grüne Galle, noch lebenden Thieren entnommen, manchmal schwere Pesterkrankung mit letalem Ausgange zur Folge hat. 3. Die Angabe von R. Koch, dass Thiere, die 10 ccm Pestgalle subcutan erhielten, nach acht bis zehn Tagen subcutane Injection von Pestblut, selbst in Dosen von 30 bis 40 ccm ohne jeden Schaden vertragen, haben wir nicht bestätigt gefunden.

In mehr als 80 Fällen, wo wir den mit Galle nach der Vorschrift von Koch immunisirten Thieren, in verschiedenen Zeitintervallen von 10 bis 40 Tagen, nur 0.2 ccm Pestblut injicirten, erkrankten dieselben mit wenigen Ausnahmen, die vielleicht durch natürliche Immunität zu erklären sind, an schweren Pesterscheinungen: hohes Fieber, Erosionen an Maulschleimhaut und Durchfall. Allerdings sind von diesen nur wenige, nämlich drei, an Pest gestorben.

Auf Grund dieser Beobachtungen halten wir die Immunisation mit Galle nur da für zulässig, wo kein Antipestserum vorhanden ist. Zur Injection ist nur grüne Galle zu verwenden, vorzugsweise von Thieren, die nach Abfall der Temperatur getödtet wurden. Gelbe oder rothgefärbte Galle, sowie solche, die rothe Blutkörperchen enthält, nicht nur von Leichen, sondern auch von getödteten, pestkranken Thieren, ist für Schutzimpfungen gefährlich. So erklärt sich auch der Unterschied in den Resultaten von Koch und den unserigen. Wir benutzten bei unseren Versuchen in Petersburg stets Galle von an Pest verstorbenen Thieren, die gelb gefärbt war.

In Anbetracht, dass die Gallenimmunisation nur eine passive und von kurzer Dauer ist, ist es von Vortheil, nach der Gallenimpfung den Thieren Pestblut, und zur Vermeidung schwerer Erkrankung auch etwas Serum zu injiciren. Wir haben so ganz gute Resultate erzielt. Das Verfahren ist folgendes: acht bis zwölf Tage nach der Injection von Galle erhalten die Thiere 0.2 ccm Pestblut und zwei Stunden später Antipestserum von solcher Stärke, dass ohne vorherige Galleninjection diese Serummenge nicht ganz die Wirkung des Pestblutes paralysiren würde und die Thiere mit Temperaturerhöhung und Erosionen darauf reagiren würden. Die vorherige Galleninjection mildert derart den Verlauf der Reaction, dass die Thiere entweder gar nicht

oder nur mit geringer Temperaturerhöhung reagiren und nach Ablauf von zehn Tagen eine Injection von 0.2 ccm und mehr Pestblut ohne jeden Schaden vertragen und activ, d. h. bleibend immun werden. Dieses Verfahren hat den Vortheil, dass die Thiere ohne schwere Erkrankung und mit schwachem Serum den Immunisationsprocess durchmachen.

Es ist daher ganz unrichtig, was Herr Kolle sogar besonders betont, dass der Nutzen einer Blutimpfung nach der Galleninjection nicht erwiesen sei. Im Gegentheil, während die Immunität nach Galleninjection nur eine passive ist, nach Koch drei bis fünf, nach Kolle zwei bis vier Monate, nach unseren Beobachtungen manchmal nur zwei bis vier Wochen andauert, erlangen die mit Galle behandelten Thiere durch die Pestblutinjection eine dauernde Immunität, erkranken nach successiver Injection von 1.0, 5.0, 30.0 und 100.0 ccm Pestblut nicht mehr, werden activ immun und liefern bei fortgesetzter Injection von Pestblut in immer steigenden Dosen, wie dies auch Kolle angiebt, ein hochwerthiges Serum.

Bekanntlich fand vor Kurzem Fraser[1]), dass die Galle giftiger Schlangen im Stande ist, grosse Mengen des Schlangengiftes zu neutralisiren. Anlässlich unserer Untersuchungen über die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte[2]) haben wir gezeigt, dass die Entgiftung des Tetanotoxins im Darmcanal durch Gemische von Pankreassaft mit Galle in bestimmten Verhältnissen geschieht. 0.06 g Pankreassaft und 0.02 g Galle entgiften bei Bruttemperatur mehr als die 100 000 fache Dosis des Tetanotoxins. Galle allein neutralisirt Tetanotoxin ebenfalls, jedoch bedarf es dazu viel grösserer Mengen, so dass 0.1 bis 0.5 g Galle, nach 17 stündiger Einwirkung bei der Bruttemperatur, die 1000 fache tödtliche Dosis des Tetanotoxins neutralisiren.

Bei Fortsetzung unserer Untersuchungen hierüber fanden wir, dass es die gallensauren Salze sind, die diese giftneutralisirende Wirkung ausüben. Gegenüber dem Tetanotoxin erwies sich am wirksamsten das hyocholsaure Natrium, schon weniger das taurocholsaure Natrium und am wenigsten wirkte das glycocholsaure Salz.

Rindergalle enthält 1 bis 2 Proc. gallensaure Salze, vorwiegend glycocholsaures Natron, während der Gehalt an taurocholsaurem Natron bedeutend geringer und sehr inconstant ist. Es war nun naheliegend, zu prüfen, ob die gallensauren Salze nicht auch den Rinderpestmikroben avirulent machen. Wir vermutheten, dass vielleicht Gemische von gallensauren Salzen und Pestblut immunisirende Eigenschaften besässen. Sollte es gelingen, statt mit Galle, mit gallensauren Salzen, wenn auch nur auf einige Monate, Thiere zu immunisiren, so ist begreiflicher Weise in der Immunisationslehre ein grosser Schritt nach vorwärts geschehen, und der Ersatz der Galle durch gallensaure Salze würde für die Praxis von grosser Wichtigkeit sein.

Dass die gallensauren Salze Blutkörperchen auflösen, ist schon lange bekannt. Nach unseren Versuchen ist die geringste zur Auflösung nothwendige Menge 1 Vol. 0.5 proc. Lösung von glycocholsaurem Natron auf das gleiche Volum frisch defibrinirten Rinderblutes. Ziemlich der gleichen Menge bedarf es auch von taurochol-

---

[1]) Centralbl. f. Bact. u. Parasit. **23**, 40.

[2]) **Ebenda 23**, 840. — Dieser Band S. 610.

saurem Natron, obgleich die Auflösung hier etwas rascher erfolgt. Wird nun frisch entnommenes Pestblut mit dem gleichen Volum 0.5 proc. Lösung eines der beiden gallensauren Salze vermischt, so erfolgt in wenigen Minuten die Auflösung der rothen Blutkörperchen bis auf einen geringen Rest. Das Blut behält aber selbst nach acht bis zwölf Stunden seine Virulenz. Kälber, die 1 bis 2 ccm solchen Gemisches nach sechs- bis achtstündigem Stehen bei Zimmertemperatur subcutan injicirt erhielten, gingen an typischer Pest zu Grunde.

Als wir aber 1 proc. Lösung des tauro- oder des glycocholsauren Natriums mit dem gleichen Volumen frischen Pestblutes vermischten und 24 Stunden bei Zimmertemperatur, d. h. bei 20 bis 24° C. stehen liessen, hatte das Blut seine Virulenz verloren, obgleich nach dieser Zeit in den Gemischen, namentlich mit glycocholsaurem Natron, noch wenige unveränderte rothe Blutkörperchen als Bodensatz enthalten waren. Wir injicirten von solchen und von concentrirteren Gemischen — wir vermischten gleiche Volumina Pestblut mit 2-, 4- und 5 proc. Lösung der gallensauren Salze — erwachsenen Rindern und ein- bis zweijährigen Kälbern 1.0 bis 10 ccm subcutan, worauf sie gar nicht oder nur mit geringer Temperaturerhöhung reagirten. Leider hatten diese Gemische nach ein- bis zweitägigem Stehen keine immunisirende Wirkung. 13 Stück Rinder, die solche Gemische in Dosen von 0.5 bis 10 ccm erhielten und die gesund blieben, wurden später in verschiedenen Zeitintervallen von 8 bis 40 Tagen direct mit 0.2 ccm Pestblut inficirt, oder in Contact mit pestkranken Thieren gestellt. Alle diese Thiere erkrankten an schwerer Pest; acht davon gingen zu Grunde, die übrigen fünf wurden durch Seruminjectionen am Leben erhalten.

Eine Erklärung, warum die Galle immunisirt, das Gemisch von Pestblut und gallensauren Salzen das aber nicht thut, und nach eintägigem Stehen nicht mehr virulent ist, hätte vorläufig nur einen hypothetischen Werth. Wir glauben, dass ein wesentlicher Factor hierbei die Zerstörung der rothen Blutzellen ist. Es bedarf aber noch weiterer Untersuchungen hierüber. A priori war nicht zu erwarten, dass die immunisirende Wirkung der Galle eine gleichmässige sein könnte und die Injection von 10 ccm Galle für alle Thiere genügte, um gleiche Immunität hervorzurufen. Das specifische Gewicht resp. der Gehalt an festen Stoffen in der Galle ist sehr wechselnd — von 1 bis 8 Proc. festem Rückstand —, und es ist nicht anzunehmen, dass die Menge der immunisirenden Substanz resp. der Mikroben in Gallen von verschiedenen Thieren und von so wechselnder Concentration stets dieselbe Wirkung haben wird. Nach unseren Beobachtungen ist dies auch nicht der Fall. 10 ccm der gleichen Galle immunisiren ein Thier auf einige Monate, während ein anderes schon nach zwei bis drei Wochen seine Immunität verliert. Die Herren Kolle und Turner kritisiren in ihrer letzten Publication unsere Arbeiten über die Rinderpest in der Absicht, alle unsere Angaben mit einem Schlage zu vernichten. Unsere Laboratoriumsversuche, bei welchen die Galle nicht Immunität, sondern Rinderpest in tödtlicher Form erzeugte, können nicht ins Feld gebracht werden gegen die Millionen positiver Immunisirungen mit Galle in der Capcolonie, Basutoland, Deutsch-Westafrika, Oranje-Freistaat, Transvaal u. s. w. Nun, wir haben in Iknewi über 200 Stück Rindvieh mit Galle immunisirt, und gesehen, mit welchen Einschränkungen, und auch dann nicht sicher, die Immunisation mit Galle erreicht wird. Als die Regierungscommission

nach Iknewi kam, wurden 94 Stück Hornvieh, darunter 54 Rinder, 12 Büffel, 14 Schafe und 14 Ziegen, nach der Vorschrift von Koch oder unter den von Kolle und Turner empfohlenen Cautelen immunisirt. Das Urtheil der Commission, nach dem Protokoll in ihrer Schlusssitzung vom 10. December 1898, lautet wie folgt: „§. 4. Die Schutzimpfung mittelst subcutaner Galleninjection hat sehr wesentliche Nachtheile zur Folge: a) Die Schutzimpfung mit Galle giebt verschiedenartige und im Allgemeinen ungleiche Resultate. b) Thiere, mit Galle vaccinirt, erkranken manchmal an schwerer Pest, sogar mit tödtlichem Ausgange, weshalb diese Methode der Schutzimpfung zur Ausbreitung der Seuche Anlass geben kann. Thiere, die mit Galle immunisirt sind, sind nicht immer dadurch vor Erkrankung an Pest geschützt, oder verlieren die erworbene Immunität in kurzer Zeit von zwei Wochen bis zu einem Monat. c) Bei der Wahl zur günstigen Immunisation passender Galle müssen verschiedene Umstände berücksichtigt werden, die in der Praxis nur erfüllt werden können durch speciell damit vertrautes Personal."

Die Gallenimpfungen nach Koch, so nützlich sie auch in Afrika gewesen sind, würden, nach unserer Ueberzeugung, in Russland die Schutzimpfungen gegen die Rinderpest nur discreditiren. Man muss bedenken, dass im europäischen Russland durch das Todtschlagen des erkrankten Viehes die Rinderpest ganz vertilgt wurde, und dass die administrative Behörde und die meisten Veterinärärzte die entschiedensten Anhänger der Keule sind. Selbst der Director des Dorpater Veterinärinstitutes, C. Raupach [wie E. Semmer[1]) berichtet], der früher mit guten Erfolgen auf dem Gute Karlowka im Poltawaschen Gouvernement an grauem Steppenvieh Rinderpestimpfungen ausgeführt hat (mit nur 5 bis 10 Proc. Verlusten), sprach sich gegen allen praktischen Werth der Rinderpestimpfungen, seien es Präcautions-, Schutz- oder Nothimpfungen (beim Auftreten der Rinderpest in grossen Heerden grauen Steppenviehes), aus.

Russland hat nur die Rinderpest in seinen südlichen und östlichen Provinzen, wo die Krankheit von der Türkei, Persien, Afghanistan und China Jahr ein Jahr aus eingeschleppt wird, zu bekämpfen. Für Russland musste eine Schutzimpfung ausgearbeitet werden, wo die Mortalität wo möglich gleich Null ist, und der ganze Immunisationsprocess nicht die geringste Gefahr der Seucheverbreitung bietet. Deshalb haben wir auch mit der Veröffentlichung unserer Immunisationsversuche gezögert und die Behörden erst dann um die Erlaubniss, die Immunisation in grösserem Maassstabe ausführen zu dürfen, ersucht, als wir eine vollkommen sichere und gefahrlose Methode, nämlich die Immunisation mit dem Serum nach erfolgter Infection, in dem Institute für experimentelle Medicin nach jeder Richtung hin ausgearbeitet hatten.

Gleich abfällig ist auch die afrikanische Kritik über unsere Untersuchungen bezüglich des die Rinderpest verursachenden Mikroben. Wir sind allerdings der Ansicht, dass reifere Forscher als Herr Kolle und Herr Turner ein anderes Urtheil dafür haben werden. Ohne unsere Versuche mit dem protrahirten Fieber nachzucontroliren, ohne die Schnittpräparate gemacht zu haben, erklären sie rundweg, dass

[1]) Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin **22**, 40.

Opfer eines Irrthums geworden sind. Wir glauben das nicht. Es ist ein billiger Ausweg, nach den Beobachtungen über die Maul- und Klauenseuche von Löffler, sowie nach der letzten Arbeit von Nocard und Roux über die Peripneumonie, schlechtweg den Mikroben der Rinderpest für so klein zu erklären, dass wir ihn mit unseren Mikroskopen nicht sehen können. Dagegen sprechen aber unsere Beobachtungen, darunter auch die Thatsache, dass der Pestmikrobe durch die Chamberland'sche Kerze nicht durchgeht, und es giebt viele andere Gründe, um zu begreifen, dass nicht jeder Mikrobe nach dem für die Spaltpilze gefundenen Schema isolirt werden kann, aber nicht deshalb, weil er zu klein ist, um mit unseren Vergrösserungen sichtbar zu werden.

In Iknewi hatten wir Gelegenheit, die Versuche mit den Säckchen aus Schilfrohr, die den Herren Roux und Nocard (Ann. Pasteur, **12**, 240) so schöne Resultate bezüglich der Lungenseuche gegeben haben, auch bei der Rinderpest anzustellen. Wir haben nach dem Vorschlage von Metschnikoff aus der inneren zarten Membran von Schilfrohr Säckchen angefertigt, dieselben mit einer Lösung von 10 Proc. Pepton und 3 Proc. Kochsalz gefüllt, hierauf im Autoclaven bei 120° sterilisirt und mit einem Tropfen Pestblutes inficirt. Die Säckchen wurden mit sterilen Seidenfäden zugebunden und drei bis sechs davon Kälbern in die Bauchhöhle versenkt, derart, dass die Seidenfäden aus der Schnittwunde herausragten und an der Aussenhaut mit Siegellack befestigt wurden. Nach sechs- bis zehntägigem Liegen der Säckchen in der Bauchhöhle wurden die Kälber getödtet und die Säckchen mit aller Vorsicht herausgeholt. Zum Gelingen des Versuches ist die erste Hauptbedingung die, dass das für Infection des Säckcheninhaltes verwendete Pestblut vollkommen frei von Spaltpilzen ist.

Am geeignetsten dazu ist das Blut vom dritten oder vierten Fiebertage, obgleich auch solches manchmal Spaltpilze enthält. Blut, nach Abfall der Temperatur oder von Leichen entnommen, eignet sich dafür gar nicht. Sodann ist es nothwendig, bei der Operation keine antiseptischen Mittel zu verwenden, da dadurch der Säckcheninhalt leicht abgeschwächt resp. abgetödtet wird. In gelungenen Versuchen ist nach Ablauf von sechs bis zehn Tagen der Säckcheninhalt etwas concentrirter, so dass die Säckchen geschrumpft sind; einige davon findet man aber noch prall mit Flüssigkeit gefüllt. Während der Zeit, wo die Säckchen in der Peritonealhöhle des Thieres liegen, bleibt das Kalb gesund und zeigt höchstens am ersten oder zweiten Tage eine geringe Temperaturerhöhung. An septischer Infection oder Peritonitis ist uns kein Thier gestorben.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Inhalts solcher Säckchen findet man, ausser einzelnen rothen Blutzellen, in zahlreicher Menge glänzende Körperchen zu zweien oder in Gruppen maulbeerformartig vereint, lebhaft molekular beweglich und dabei ihre Form verändernd, so dass sie rund, birnförmig, spitz oder zackig erscheinen. Die grössten sind etwa ein Drittel so gross wie ein rothes Blutkörperchen, daneben sieht man viel kleinere, bis zu einer Kleinheit, dass sie mit der stärksten Vergrösserung kaum sichtbar sind. Die maulbeerartigen Formen erinnern an sprossende Hefezellen, welche in lebhafter Vermehrung zu Gruppen vereint sind. Bei guter Belichtung erkennt man, dass sowohl die einzelnen, als auch die Gruppen

des Mikroben von einem hellen Hof, vielleicht Kapsel, umgeben sind. Diese Gebilde sind dieselben, die wir früher in Culturen und Schnitten gesehen und abgebildet haben. Wie früher, so auch jetzt, ergaben alle Färbungs- und Fixirungsversuche keine guten Bilder, da jedes Eingreifen mit Reagentien Formveränderung verursacht. Relativ die besten Bilder erhielten wir mit Osmiumsäure oder Formalin. War das verimpfte Pestblut nicht ganz frei von Spaltpilzen, so findet man ausser diesen glänzenden Körperchen auch zahlreich die ersten. In zwei Fällen, wo wir den bacterienfreien Säckcheninhalt gesunden Kälbern subcutan injicirten, gingen die Thiere an Pest zu Grunde. In zwei anderen Fällen zeigten die Kälber am vierten resp. fünften Fiebertage Temperaturerhöhung über 40°, blieben aber, nachdem sie zwei Tage fieberten, gesund. Schafe und Ziegen sind für diese Versuche weniger geeignet. Wir haben auch die Säckchen den Kälbern am Halse in das Unterhautzellgewebe placirt, doch hat sich hier bemerkenswerther Weise der Mikrobe nicht entwickelt. Wir waren leider durch die Immunisirungsversuche zu sehr in Anspruch genommen und konnten diese ziemlich umständlichen Culturversuche nicht weiter fortsetzen. Unter Mitwirkung des Ministeriums des Inneren und des Krieges hat der hohe Curator des Instituts für experimentelle Medicin, Prinz von Oldenburg, eine ständige Station zur Herstellung des Serums gegen Rinderpest in Transkaukasien errichtet, wodurch uns die Möglichkeit geboten ist, auch die Untersuchung über den Pestmikroben weiter fortzusetzen.

Immunisation mit abgeschwächtem Pestmaterial.

In Russland wurden wiederholt Versuche gemacht, ausser der Absperrung und Tödtung, auch durch Immunisation der Rinderpest Herr zu werden. Von Jessen, Raupach und Anderen wurden zu dem Zwecke die Thiere mit abgeschwächtem Pestmaterial, sei es durch die Wärme, sei es durch chemische Agentien, geimpft und noch vor Kurzem von E. Semmer (l. c. S. 38) das Erwärmen pesthaltigen Materials auf 45 bis 50° C. oder Abkühlen bis — 20° C. als am geeignetsten dafür empfohlen. Es war daher angezeigt, nach diesem Principe mit vervollkommneten Methoden eine Schutzlymphe gegen die Rinderpest herzustellen und ihre Wirkung zu prüfen. Um eine gleichmässige Erwärmung in allen Schichten des abzuschwächenden virulenten Materials zu erzielen, wurde dasselbe in ein geschlossenes Reagensglas oder Kolben gebracht und in einem mittelst eines Regulators genau auf die gewünschte Temperatur eingestellten geschlossenen Wasserbade erwärmt. Mittelst eines Rührwerkes wurde das Röhrchen mit dem Pestmaterial während des Erwärmens in fortwährender Bewegung gehalten. Um vergleichbare Resultate zu haben, wurde das virulente Material in allen diesen Versuchen genau eine halbe Stunde bei gewünschter Temperatur gehalten. Ohne auf die übrigen Details einzugehen, wollen wir die erhaltenen Resultate kurz resumiren.

Pestblut oder Extracte aus pesthaltigen Organen, wie Magen, Pankreas, ? und Milz, eine halbe Stunde auf 52° erwärmt, werden nicht mehr virulent, d. Pestmikrobe wird darin vollkommen abgetödtet. Bei 50 und 48° ist die Abtö nicht ganz sicher. Die höchste Temperatur, bei welcher innerhalb

keine völlige Abtödtung der Pestmikroben stattfand, war 46° C. Wir wählten daher das Erwärmen auf 46° C. während einer halben Stunde als die geeignetste Temperatur zur Abschwächung des Pestvirus, und injicirten Rindern subcutan die abgeschwächte Flüssigkeit in Mengen von 0.5 bis 5.0 ccm. Im Ganzen wurden für diese Versuchsreihe 30 Rinder verwendet, wovon 12 für die Organextracte (1 Theil des frischen Organs auf 4 Theile physiologischer Kochsalzlösung) und 18 Thiere für auf 46° erwärmtes Pestblut verwendet wurden. Die Wirkung des so abgeschwächten Virus war leider keine gleichmässige, und fast ein Drittel der Versuchsthiere ging an Pest zu Grunde. Der Rest blieb dauernd immun. Wie eben erwähnt, war der Hauptübelstand dieses Verfahrens die ungleichmässige Wirkung. Wir verwendeten dafür aus der Vene entnommenes Blut kurz vor oder nach Abfall der Temperatur. Wenige Stunden nach der Entnahme wurde das Blut in den Thermostaten gebracht und auf 46° erwärmt. Es ereignete sich wiederholt, dass Rinder, mit $^1/_2$ ccm des abgeschwächten Pestblutes inficirt, am fünften Tage erkrankten und an Pest zu Grunde gingen, während Rinder, mit 1.0 ccm des gleichen Blutes inficirt, leicht erkrankten und immun wurden. Offenbar wurde der in den rothen Blutzellen enthaltene Pestmikrobe in dem ersten Falle nicht vollkommen abgetödtet, während dies selbst in der doppelt so grossen Quantität des gleichen Blutes der Fall war. In Anbetracht, dass wir mit Antipestserum, und selbst mit der Galle, weit bessere Resultate erzielten, halten wir die Immunisation mittelst durch Wärme abgeschwächten Pestmaterials für die praktische Verwendung als wenig geeignet.

St. Petersburg, 18. Februar 1899.

Die Beziehungen der Verdauungsfermente zum Antidiphtherieserum und das Schicksal des letzteren im Magendarmcanal

von

S. Dzierzgowski.

Arch des scienc. biolog. 7, 337. — Nach dem Referate von Dr. A. Walther abgedruckt. Maly's Jahresber. 29, 957.

Durch Versuche an Hunden und Kaninchen wurde festgestellt, dass sich diese Thiere bei normalen Bedingungen durch Einführung des Diphtheritoxins per os nicht immunisiren lassen. A priori konnten hierfür verschiedene Umstände verantwortlich gemacht werden, vor Allem eine Zerstörung des Antitoxins durch die Verdauungssäfte. In der That werden bedeutende Mengen Antitoxin durch 0.5 proc. Salzsäure, welche der normalen Acidität des Magensaftes entspricht, bei Bruttemperatur zerstört. Es wird berechnet, dass in Folge der Säurewirkung des Mageninhalts nur etwa 17 Proc. des eingeführten Antitoxins unzerstört in den Darm übertreten. Pepsin in neutraler Lösung schädigt das Antitoxin nicht, wohl aber in saurer Lösung. Pankreassaft und Galle zerstören das Antitoxin nicht, weder wenn sie einzeln, noch

wenn sie zusammen auf dasselbe einwirken; durch Darmsaft scheint es zuweilen geschädigt zu werden. Das Portalblut enthält nicht weniger Antitoxin als das Blut anderer Circulationsgebiete; mithin wird das Antitoxin auf dem Wege zur Blutbahn nicht vernichtet. Es musste demnach der Restbetrag, welcher der deletären Wirkung des Magensaftes entgangen ist, im Organismus wirksam sein. Verf. zeigt jedoch durch Versuche an einem Hunde mit einer Duodenalfistel, dass das Antitoxin beim Hunde aus dem Darme nicht resorbirt wird, woraus sich die negativen Resultate der Immunisirungsversuche erklären. Beim Kaninchen hingegen wird das Antitoxin aus dem Darme resorbirt, deshalb ist hier eine Immunisirung durch Einführung des Antitoxins in den leeren Magen möglich.

Zur Frage „Ueber das krystallinische Fibrin"

von

S. Dzierzgowski.

Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**, 65. — Referirt von den Herausgebern.

A. Maillard (Bulletin de la société chimique de Paris **21**, 239) hat mitgetheilt, dass der Niederschlag, der bei längerem Stehen des Diphtherieheilserums entsteht, theilweise aus krystallinischem Fibrin bestehe. Verf. kommt auf Grund seiner eingehenden Studien zu folgenden Resultaten: Serumniederschläge zeigen keine constante Zusammensetzung. Sie bestehen hauptsächlich aus vier verschiedenen Körpern: 1. dem Kalksalze der höheren Fettsäuren, 2. Glycerin- und Cholesterinester dieser Fettsäuren, 3. aus einem Körper, der in Wasser und Salzlösungen unlöslich, vom Magen- und Pankreassaft verdaut und durch Kochen mit verdünnten Säuren löslich wird — dieser Körper könnte das Fibrin sein —, 4. aus einem Eiweissstoff, der bei der Verdauung intact bleibt, Phosphor und Stickstoff enthält und als Nucleïn angesehen werden kann. Da der Serumniederschlag je nach der Dauer der Extraction mit kochendem Alkohol seine weisse Farbe, kalkartige Beschaffenheit und krystallinische Structur verliert, so ist es sicher, dass das krystallinische Fibrin nichts Anderes als Kalksalz der Fettsäuren ist. Die Frage, ob überhaupt in dem Serumniederschlag Fibrin vorhanden, betrachtet Verf. als eine noch offene.

Ausserdem hat Dr. Dzierzgowski in diesem (1899) Jahre noch folgende Arbeiten in russischer Sprache publicirt: die Nothwendigkeit der Einführung einer allgemeinen und für alle Stationen obligatorischen Untersuchungsmethode zur Stärkebestimmung des diphtheritischen Heilserums in Russland, Врачъ Nr. 3[illegible] und zur Frage der Desinfection der Wohnräume, Врачъ Nr. 1 u. 2 und Gaze
Nr. 6 und 7.

1900

O zadaniach chemii biologicznej

podał

M. Nencki.

Eröffnungsrede am IX. Congress polnischer Naturforscher und Aerzte in Krakau. Przeglad Lekarski 39. 446. — Ausser dem polnischen Original lassen wir unten eine deutsche Uebersetzung dieser Rede abdrucken. (H.)

Jeżeli kto, jak ja, przeszło 30 lat poświęcił pracy naukowej w pewnym kierunku, to mimowoli nasuwa się myśl, iż czas, który mu pozostaje jest już krótki i że trzeba się liczyć z siłami z jednej, a zadaniami z drugiej strony, by pozostające mu jeszcze chwile zużytkować jak najlepiej i nie rozpraszać nabytej wprawy w metodyce, oraz środków materyalnych, ale rozsądnie je ześrodkować — Carpe diem — mówi mu jego naukowe sumienie.

Jeżeli sobie uprzytomnię to, co na początku mojej działalności naukowej wydawało mi się jako wysoki, trudny do osiągnięcia cel i porównam z tem, co po 30 latach już jest osiągnięte, to mogę powiedzieć z Goethem „wonach ich mich in der Jugend sehnte, davon habe ich im Alter die Fülle“. Synteza wytworów przeobrażenia wstecznego, jak n. p. ciał ksantynowych, kwasu moczowego i innych, synteza cukrów, rozkład białka na wytwory krystaliczne, których budowa chemiczna prawie wszystkich jest zbadana, białka krystaliczne itd., wszystko to już jest osiągnięte. Z czasem i to, co nam prawie do osiągnięcia wydawało się niemożebnem wpadło w nasze ręce; lecz my, dążąc ciągle naprzód, już inne, trudniejsze do wypełnienia mamy życzenia. Nie wątpię, iż te zamiary przez nowe pokolenie badaczy zostaną osiągnięte, że nasi następcy znowu będą mieli cele, których my obecnie nie przeczuwamy. Powstały nowe gałęzie wiedzy, jak bakteryologia, seroterapia i setki nowych faktów, tyczących się przemiany materyi i wogóle życia tak istot jednokomórkowych, jak i ustrojów o budowie bardziej złożonej. Jeżeli więc osiągnięte wyniki zachęcają nas do wyjaśniania i badania coraz trudniejszych spraw życiowych, to wartoby sobie uprzytomnić, jaki jest cel ostateczny badań naszych w chemii biologicznej?

Zadaniem chemii biologicznej jest nietylko poznanie części składowych istot jedno- lub wielokomórkowych, lecz i przemiany materyi w tych istotach. Na każdym kroku nasuwa się nam tu pytanie, na czem właściwie polega zjawisko, iż komórka żywa wykształca się, odżywia, rośnie, rozmnaża i w końcu zawsze, prędzej czy później, umiera, a w martwej znajdujemy najzupełniej te same składniki, co w żywej? Weźcie n. p. Panowie żyjącą istotę jednokomórkową, jak drożdże, amebę lub ciałko białe krwi; w nich są wszystkie te objawy, które uważamy za cechujące do życia: organisatio, nutritio, evolutio, reproductio et mors; nagrzejmy te istoty o 10° wyżej ponad optimum ich ciepłoty życiowej, z 40° do 50°, to istota żywa stanie się martwą. Intra vitam tej żywej istoty możemy stwierdzić, iż ona się składa z wody, białka, węglowodanów, tłuszczów, materyi wyciągowych i ciał nieorganicznych; te same części składowe i w tym samym odsetku znajdziemy i w składzie tej istoty martwej. A zatem, co właściwie zaszło? jaka jest zmiana materyi przy przejściu komórki żywej w martwą? Pytanie to powtarza się na każdym kroku naszych badań i wyjaśnienie jego jest ostatecznym celem nauk biologicznych.

Czy jest to możebne, ażeby cel ten został osiągnięty? albo też, jak to niektórzy twierdzą, semper ignorabimus?

Z góry mogę powiedzieć, iż każdy, pracujący w zakresie biologii, dąży świadomie czy nieświadomie do tego celu. Co dotychczas w tym kierunku zrobiono i jakie sposoby i drogi ku temu będą użyte w najbliższej przyszłości, to stanowi przedmiot mego dzisiejszego wykładu.

Naprzód trzeba nam się porozumieć w dwuch głównych punktach: 1. iż drobiny (molekuły), z których się składa materya, nie są nieskończenie małe, lecz mają pewną wielkość i 2. że, podług prawa Avogadra, gaz w jednakowej objętości w jednakowej ciepłocie i pod jednakowem ciśnieniem zawiera jednakową ilość drobin, a ztąd wagi ciał w stanie gazowym są równe wagom drobin. Ponieważ n. p. waga kwasu octowego jest 30 razy większa, aniżeli waga wodoru (H_2) to i waga drobiny kwasu octowego $C_2H_4O_2$ w stanie gazowym jest odnośnie do H_2 30 razy większą.

Z badań nad dyfuzyą i tarciem gazów okazało się, iż n. p. drobiny 1 cm³ wodoru, jeżeli sobie przedstawimy, iż są one rozłożone jedna obok drugiej, zajmują przestrzeń, równą 9500 centymetrów kwadratowych. Z dalszych obliczeń wynika, iż ilość wszystkich drobin, znajdujących się w 1 cm³ równa się liczbie $= 5.10^{19}$. W mikroskopijnym sześcianie o krawędzi 0.001 cm znajduje się około 50 tysięcy milionów drobin wodoru. Najmniejszy przedmiot, widzialny przy najsilniejszem naszem obecnem powiększeniu, równa się mniej więcej $= 0.000\,025$ cm. W takim punkciku byłoby pod ciśnieniem jednej atmosfery zawsze około miliona drobin wodoru (porównaj Ostwald: Allg. Chem. T. I. Stöchiometrie str. 222).

Fakt ten, iż drobiny mają wielkość, chociaż tak ogromnie małą, jest nader ważny, gdyż ztąd wynika, iż mamy do czynienia w drobinach z cząstkami materyi pewnej, oznaczonej wielkości i uprawnieni jesteśmy do przekonania, iż i składające drobiny, także mają pewną ograniczoną wielkość.

Jak wiadomo, tylko stosunkowo małą ilość ciał można b
zamienić w stan gazowy. Mamy jednak dostateczną ilość fakt
gdyby i związki złożone można było zamienić na gaz, to i on

legały wyżej wymienionym prawom. Przypatrzmy się teraz dalszym własnościom drobin.

Drobiną nazywa Maxwell taką cząstkę materyi, która w ruchu porusza się jako całość, jeżeli mamy na względzie punkt środkowy masy. Oprócz tego ruchu jest jeszcze w drobinie i ruch jej części składowych (konstytuentów) względnie do środka. Jeżeli przypuścimy, iż te części składowe są właśnie atomy, z których się składa drobina i że każdy atom jako punkt się porusza, to każdy atom poruszać się musi w 3 kierunkach przestrzeni i wskutek tego liczba zmiennych (Variable) dla oznaczenia położenia i konfiguracyi atomów jest 3 razy większa, aniżeli liczba atomów w danej drobinie.

Jeżeli teraz uwzględnimy, iż drobiny większej części związków organicznych składają się z kilkudziesięciu, a w wysoko złożonych drobinach i z kilku tysięcy atomów, to możecie sobie Panowie przedstawić, jak wielka musi być rozmaitość i różnorodność konfiguracyi drobin.

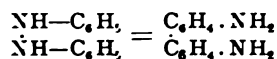
W drobinach o mniej prostej budowie, jak n. p. w eterach (tłuszczach), bardziej złożonych węglowodanach, glukozydach, ciałach białkowych, gdzie kilka lub kilkanaście drobin, bądź to jako anhydrydy, polyglukozydy, polyureidy itp. są złączone, muszą być obok głównego ośrodka jeszcze centra drugo- trzecio- i t. d. rzędne, które dla ruchu atomów całej drobiny są miarodajne.

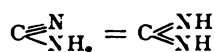
W istocie wszystkie badania na polu chemii organicznej w ostatnich 50 latach udowodniły i udowodniają ciągle, iż charakter drobin zależy od wzajemnego stosunku atomów w drobinie resp. od ruchu, który atomy w drobinie wykonują. Połączenie węgla z tlenem i wodorem w formie karboksylu czyni, iż taka drobina ma własności kwasu. Inne formy konfiguracyi stanowią o tem, czy ten związek będzie alkoholem, aldehydem, ketonem lub eterem. W połączeniach zaś z azotem — czy będzie amidem, nitrilem, aminą i t. d. Każdy chemik wie, że jeżeli w drobinie jeden atom węgla jest połączony z czterema różnorodnymi atomami lub drobinami, to drobina ta będzie optycznie aktywną, taki atom węgla jest asymetryczny. Zapewne i przejście w stan magnetyczny polega na osobnym swoistym ruchu atomów w drobinie żelaza. Każdemu chemikowi znaną jest równie rzeczą, jak ważną rolę gra w połączeniach aromatycznych położenie grup bocznych, czy one są w orto, meta lub parapołożeniu. W chemii technicznej wiemy dobrze, że jeżeli w ciałach aromatycznych są dwie grupy boczne w położeniu orto, a obok tego jeszcze jedna grupa z charakterem nie karboksylowym, to takie związki mają własność barwić zaprawy — teorya tak zwanych „beizenziehender Farbstoffe". Niedawno dowiódł V. Meyer, iż połączenia orto trudniej się eteryfikują aniżeli meta lub para, a E. Fischer — iż aminy, mające dwie sąsiednie grupy alkylowe, można wprawdzie zamienić na zasady trzeciorzedne (tertiäre), ale nie na t. zw. zasady amonowe czwartorzędne. Mógłbym przytoczyć cały szereg innych faktów, dowodzących, że wzajemne położenie atomów w drobinie nadaje jej różne własności swoiste. Należy teraz sobie uprzytomnić, iż w drobinach wysoko złożonych składających się z pięciu, dziesięciu lub kilkudziesięciu grup drugiego, trzeciego, czwartego i t. d. rzędu, wszystkie te wymienione konfiguracye mogą mieć miejsce. Wiemy n. p., iż w białkach muszą być grupy z asymetrycznymi atomami węgla, gdyż białka są optycznie aktywne;

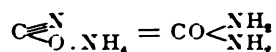
zresztą zostały z nich wydzielone jako aktywne leucyny, tyrozyny, i t. d.; w białku mamy 3 aromatyczne grupy, t. j. tyrozyny, fenylalaniny i kwasu skatoloctowego. Przy rozkładzie białka powstaje cały szereg kwasów amidowych jedno i dwuzasadowych, ciała z grupy diaminów, jak lisyna, histydyna, arginina i t. d. Tu jeszcze wspomnieć należy, iż wiele ciał białkowych zawiera w swej drobinie i grupy węglowodanów.

Łatwo pojąć, iż taka wysoko złożona drobina z różnymi bocznymi ośrodkami, w molekularnym swym ruchu jako całka odnośnie do głównego ośrodka nie może być tak skupiona, jak proste drobiny, złożone z kilku lub kilkunastu atomów. Taka wysoko złożona drobina nie jest w stanie stosować się do wszystkich zmian fizycznych, które spostrzegamy w drobinach mniej złożonych; białka nie możemy przemienić w stan płynny, tem bardziej w gazowy. Z drugiej strony tak wysoko złożona drobina będzie przedstawiała ogromną rozmaitość i różnorodność względnie do czynników chemicznych, termicznych, elektrycznych, a nawet i mechanicznych.

Warunki istnienia tak wysoko złożonych drobin będą coraz ciaśniejsze. Jak to już dawno wykazałem, białka, równie jak cukier, chłoną w roztworach alkalicznych już w ciepłocie zwyczajnej tlen atmosferyczny. Roztwory białek nie znoszą ciepłoty wyżej 50^0—70^0, oraz działania wodnych roztworów alkaliów, kwasów, soli metalicznych, alkoholu i t. d. bez tego, iżby atomy w drobinie białka nie zmieniały swego położenia. Ścinanie się białka przez ogrzanie bezwątpienia polega na takiem przestawieniu atomów w drobinie białka. Być może nawet, iż w niektórych białkach przy ścinaniu się następuje i polimeryzacya tego typu, jak n. p. polimeryzacya kwasu cyanowego na cyanurowy, lub aldehydu na paraldehyd; chociaż prawdopodobniej przy ścinaniu się następuje przestawienie tylko w bocznych ośrodkach układów „labilnych“ w bardziej stałe (stabilne), bez polimeryzacyi całej drobiny, jak n. p. przestawienie „labilnej“ drobiny hydroazobenzolu w bardziej stałą (stabilną) benzydyny

$$\begin{matrix} NH-C_6H_5 \\ \dot{N}H-C_6H_5 \end{matrix} = \begin{matrix} C_6H_4.NH_2 \\ \dot{C}_6H_4.NH_2 \end{matrix}$$

cyanamidu w carbodiimid

$$C\begin{matrix} \equiv N \\ < NH_2 \end{matrix} = C\begin{matrix} \lessdot NH \\ \lessdot NH \end{matrix}$$

lub amoniaku cyanowego w mocznik

$$C\begin{matrix} \equiv N \\ < O.NH_4 \end{matrix} = CO<\begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$$

Im większa jest czułość drobiny na odczynniki, tem słabszą staje się potencyalna siła spójności, t. j. tem słabsze jest tak zwane powinowactwo chemiczne.

W sokach i wydzielinach ustrojów żywych znajdują się w rozczynach takie ciała białkowe; wiele z nich odznacza się tą własnością, iż w obecności innych drobin złożonych, te pierwsze są w stanie rozkładać ostatnie na mniej, niż one, złożone. Białka takie nazywamy „enzymami hydrolitycznemi“; inne znowu w obecności tlenu są w stanie przenosić ten tlen na drobiny dalsze. Takie enzymy nazywamy „oksydazami“. Inne znowu białka, znajdujące się głównie w komórkach żywych, a nie w wydzielinach tych komórek, wypełniają funkcye jeszcze bardziej złożone. Niedawno **Buchner**, wyciskając komórki drożdży, otrzymał bogaty w białko sok,

który w 40 $^{0}/_{0}$ rozczynie cukru wywołuje fermentacyę alkoholową, t. j. przemienia cukier na alkohol i kwas węglowy. Cremer zauważył, iż ten sok drożdżowy (Hefepresssaft) wytwarza z cukru także i glikogen. Wiener stwierdził, iż sok, wyciśnięty z komórek wątroby bydlęcej, wytwarza kwas moczowy, a takiż sok komórek nerkowych — niszczy kwas moczowy. Sprawy takie jedni uważają za wywołane enzymami specyficznemi, drudzy, jako działanie jeszcze żyjącej protoplazmy w rozczynie. Ścisłe odgraniczenie pojęć staje się tutaj trudnem. Być może, że dalsze badania wyjaśnią nam, iż protoplazma żywa jest tylko mieszaniną różnych enzymów, albo też, iż protoplazma jest jedną całą drobiną, która może spełniać różne funkcye. Zwracam jednak uwagę na ten fakt ogromnej doniosłości, iż w takich roztworach, wyciśniętych z komórek żywych, odbywają się sprawy życiowe, które my dotychczas uważaliśmy, jako wyłączną własność istot żywych. Tu ginie granica między tem, co martwe, a co żywe. Jak struna naciągnięta, będąc uderzona, wykonuje drgania, które przy małej „amplitudzie" są dla naszego oka tylko widzialne, lecz gdy ilość drgań wynosić będzie 32 na sekundę, to podrażni i nasze ucho, jako najniższy ton słyszalny, tak również według mego zdania jest i będzie na razie rzeczą umowy, czy my takie objawy nazwiemy działaniem enzym, czy też żywej protoplazmy lub żywego białka resp. życiem. Panowie możecie ocenić jak wielką przyszłość mają badania w tym kierunku i jaki żal owłada jednostkę, gdy musi schodzić z pola pracy, widząc takie ważne zadania dla późniejszego pokolenia.

Z drugiej jednak strony, jako badacz trzeźwy, poczuwam się do obowiązku ostrzedz przed przedwczesnemi wnioskowaniami, a przedewszystkiem przed uogólnieniami. W naukach przyrodniczych wogóle, a w biologicznych w szczególności, nigdy nie należy z kilku lub kilkunastu faktów udowodnionych robić prawa ogólnego. W ostatnich czasach, kiedy cały zastęp badaczy pracuje nad enzymami, dzieje się dużo nadużyć z wyrazami „enzyma", „ferment". O ile bliżej poznaliśmy niektóre enzymy, twierdzić jesteśmy w prawie, iż należą one do ciał białkowych o „labilnej" drobinie; byłoby jednak przedwczesnem utrzymywać, iż wszystkie enzymy są ciałami białkowemi. Dalej, w stanie czystym w takiem pojęciu, jak n. p. alkohol, mocznik, kwas benzoesowy, itp., nikt jeszcze enzym nie wydzielił. Im więcej usiłujemy je uwolnić od tak zwanych przymieszek, im więcej one na pozór są oczyszczone, tem więcej tracą na swej działalności, co naprowadza na przypuszczenie, iż rzekome te przymieszki, są w istocie dla pełnej działalności enzymy nieodzowne. Jako przykład przytoczę moje spostrzeżenia nad pepsyną: oziębiając sok żołądkowy psa, osiągnięty metodą Pawłowa, otrzymujemy pepsynę w kształcie ziarnek, które w 0.1 $^{0}/_{0}$—0.5 $^{0}/_{0}$ kwasie solnym trawią energicznie białko. Ziarnka te składają się głównie z białka z grupy nukleoproteiny, lecz oprócz tego zawierają kwas solny, fosforan żelaza i lecytynę; przez dyalizę można z soku żołądkowego tak dalece wydzielić to ostatnie, iż wysuszona pozostałość białkowa zawierać będzie tylko 0.2 $^{0}/_{0}$ HCl, 0.3 $^{0}/_{0}$ $(PO_4)_2Fe_2$ i ślady lecytyny. Otóż taka pepsyna zawsze trawi słabiej, aniżeli ziarna pepsyny bez oddzielenia lecytyny i fosforanu żelaza.

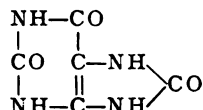
Konieczna obecność pewnych, na pozór obcych ciał, by enzymy swą działalność specyficzną mogły przejawiać, uwydatnia nam ich analogię z istotami żywemi. W każdej komórce żywej znajdują się nieodzowne dla życia, oprócz ciał białkowych,

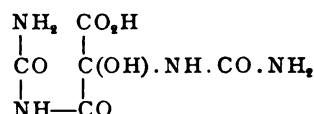
także i tłuszcze, lecytyny i inne ciała organiczne i nieorganiczne. W tak wysoce złożonych drobinach białkowych, jakie znajdujemy w komórkach żywych, jest zresztą nader trudno odróżnić, co tu jest tylko przymieszką mechaniczną, a co rzeczywiście składową częścią drobiny. Obecnie większa część chemików biologicznych już chyba nie wątpi, że tak zwany popiół, to jest materye nieorganiczne, otrzymane przez spalenie białka, po większej części nie jest zanieczyszczeniem, ale rzeczywistym pierwiastkiem składowym drobiny, jak wodór lub azot. Wiele drobin, wchodzących w skład ustrojów, traci swe pierwiastki już przez działanie wody, t. j. przy opłókiwianiu wodą dystylowaną; n. p. hemina, opłókiwana wodą, utraca chlor, a przy dłuższem opłókiwaniu i żelazo. W istotach żywych, a szczególnie w ustroju zwierzęcym, spotykamy na każdym kroku związki, które bardzo łatwo tworzą tak zwane wytwory „adycyi", jak n. p. kwas cholalowy z alkoholem lub fenolem, hemina z alkoholami i kwasami. Niedawno Bing ogłosił pracę, w której twierdzi, iż opisane przez Drechsela ciało złożone, nazwane „jekoryną", jest adycyonalnem połączeniem lecytyny z cukrami, a już dawniej opisał Liebermann w Peszcie różne tego rodzaju połączenia ciał białkowych z lecytyną pod nazwą „lecitalbuminatów". Być więc może, iż i w pepsynie lecytyna, kwas solny i fosforan żelaza są w takiem luźnem połączeniu z białkiem, które przez działanie wody dystylowanej rozkłada się na swe części składowe.

Na jakiej konfiguracyi atomów w drobinie polega różnica „labilnego" (żywego) a martwego białka? Na to obecnie dać odpowiedź jest bardzo trudno i mamy tylko hypotezy, oparte na stosunkowo małej ilości faktów. Z góry można powiedzieć, iż ilość tych konfiguracyj musi być ogromnie wielka, mając na uwadze wielce złożoną drobinę ciał proteinowych i najróżnorodniejsze ciała białkowe, właściwe nietylko każdemu ustrojowi, ale i każdej żywej komórce. Jako wzór „labilnych konfiguracyj", lepiej nam znanych, przedstawiają się z związków organicznych ciała z grupy cyanu, aldehydy, ketony, aziny, superoksydy, tak zwane związki nienasycone itp. Pflüger przypuszczał, iż różnica między żywem, a martwem białkiem polega na grupie cyanowej. Loew, opierając się na swych badaniach nad wodorostami (Spirogyra orthospira, nitida i. d.), u których zauważył, iż białko żywe energicznie redukuje bardzo rozcieńczone roztwory alkaliczne srebra — reakcya charakterystyczna dla aldehydów, — a po przejściu w stan martwy reakcyę tę traci, sądzi, iż dla żywego białka cechującą jest grupa aldehydowa. Przy przejściu w stan martwy, pod wpływem czynników chemicznych, termicznych, elektrycznych lub mechanicznych, tlen zmienia swe położenie aldehydowe względem węgla, przechodząc w „konfiguracyę stabilną". — Liczne i staranne prace Loewa przemawiają za tem, iż jeżeli nie jedynym, to ważnym czynnikiem w białku żywem Spirogyr jest grupa aldehydowa. Zastosowanie tej teoryi aldehydowej do wszystkich form „labilnego" białka okazało się jednak pojęciem zbyt ciasnem. Badania w tym kierunku są jednem z najważniejszych badań chemii biologicznej w przyszłości, gdyż objawy życia polegają na „labilnej" konfiguracyi takich drobin złożonych i na ruchach swoistych atomów w tych drobinach. Faktem jest, iż woda, tlen i nieznaczne podwyższenie ciepłoty są głównymi czynnikami przy przejściu martwego, lub ściśle powiedziawszy, „inertnego" białka w żywe, jak tego dowodzą zjawiska przy przejściu życia utajonego (vie latente) w jawne (vie manifestée), które spostrzegamy nietylko w nasionach roślin, ale i w

niższych ustrojach zwierzęcych, jak wymoczki, rotifera, tardigrada, lub u robaczka mąki (anguillula tritici). Spostrzeżenia i badania w tej sprawie zestawił Cl. Bernard w swej zajmującej monografii „Leçons sur les phénomènes de la vie“, p. 65—124.

Jak głębokie i jakiego charakteru są przemiany drobin organicznych przy względnie niskiej ciepłocie, lecz współudziale powietrza i wody, ilustruje już dawniej zrobione przemnie spostrzeżenie nad kwasem moczowym. Ciało to, którego budowa jest znaną:

```
NH—CO
|   |
CO  C—NH\
|   ||   >CO
NH—C—NH/
```

i którego drobina jest, że tak powiem, skupiona, w alkalicznym roztworze i przy dostępie powietrza w krótkim czasie, w ciepłocie 37°—40°, przyjmując w drobinę wodę i tlen, przechodzi w kwas uroksanowy: $C_5H_4O_3N_4 + 2H_2O + O = C_5H_8O_6N_4$. Budowa tego kwasu jest podług wszelkiego prawdopodobieństwa następująca:

```
NH2 CO2H
|   |
CO  C(OH).NH.CO.NH2
|   |
NH—CO
```

Być może, iż charakter przemiany drobin ciał białkowych, które w alkalicznym roztworze już przy zwyczajnej ciepłocie wchłaniają tlen z powietrza, jest podobny.

Ciekawem jest pytanie, czy takie „labilne“ drobiny białkowe, jak enzymy, toksalbuminy i antytoksyny mogą być zachowane nieograniczenie lub względnie długi czas, nie tracąc swej specyficznej działalności? Szczupłe w tym kierunku badania wykazują znowu podobieństwo między istotami żywemi, a białkiem „labilnem“. Niektóre enzymy, jak chymozyna (Labferment) lub trypsyna, wysuszone w niskiej ciepłocie, rozpuszczają się po latach w wodzie i strącają sernik resp. peptonizują białko. Jest to podobieństwo z wyżej wspomnianem życiem utajonem nasion i wymoczków. W wodnych roztworach, w przystępie światła i powietrza, tracą one w krótszym lub dłuższym czasie swe specyficzne własności, w ich drobinie „labilnej“ następuje przestawienie atomów na konfiguracyę bardziej „stabilną“; rzecby można, iż obumierają. Z pięciu dla każdej żywej istoty charakterystycznych objawów, t. j. organizacyi, odżywiania się, rozwoju, mnożenia się i zaniku, tylko ten ostatni, t. j. znikomość, byłby wspólny tak dla istot uorganizowanych, jak i dla rozpuszczalnego białka żywego.

Oto są w ogólnych zarysach główne problemata chemii biologicznej. To, ażebyśmy nawet najprostszą, jednokomórkową, żywą istotę w naszych pracowniach stworzyć mogli, o tem obecnie marzyć nie podobna; ale już to samo przeświadczenie, że tak jest, stanowi postęp, gdyż dowodzi, że zdajemy sobie sprawę z trudności, które nam stają na drodze badania. Obecnie dążenie nasze jest skierowane głównie ku temu, aby otrzymać sztucznie takie ciała białkowe „labilne“, któreby miały własność enzym. I to zadanie pokazuje się nam tylko, jako w dalekiej przyszłości możebne do urzeczywistnienia. Ale i tu trudno być prorokiem. Usilna praca tak wielkiej

liczby pracowników całego świata cywilizowanego na tem polu, może, jak sądzę, wcześniej ten cel urzeczywistni. Postępy biologii są zależne od postępów nauk również doświadczalnych, jak fizyka, chemia i morfologia. Głównem zadaniem chemii biologicznej jest wyjaśnienie zjawiska życia, które to zadanie najłatwiej nam opracowywać w istotach jednokomórkowych. Zadanie to jednak nie jest jedynem. Wyjaśnienie zjawisk życiowych w ustrojach bardziej złożonych jest również naszym celem, a jest to obszar ogromny, prawie bezgraniczny. Tu dążymy do poznania specyalnej funkcyi każdego narządu, do wyjaśnienia, o ile komórki, składające pewien narząd, są zależne od całego ustroju, a o ile posiadają pewną niezawisłość indywidualną. Jak długo one żyją, jak się odżywiają i mnożą? Badania ostatnich lat, np. nad ciałkami białemi krwi zwierząt, dowiodły, iż te ciałka są pod wielu względami istotami niezawisłemi. One pochłaniają tłuszcz, trawią białko i skrobię zupełnie samoistnie; dalej strzegą cały ustrój od obcych, szkodliwych związków, chorobotwórczych ustrojów, przenoszą nierozpuszczalne substancye z jednego narządu do drugiego, możnaby rzec, że wypełniają w ciele zwierzęcia zadania poczty i ochronnej policyi. Zadań, czekających na rozwiązanie, jest nieskończona ilość i pojedynczy badacz, przepracowawszy całe swe życie, nie może powtórzyć słów Seneki „si quis totam diem currens pervenit ad vesperum, satis est“, gdyż widzi, jak jedne pokolenia po drugich dalej kroczyć i pracować muszą, a końca badań nie ujrzą. Za to wiedza nasza będzie coraz obszerniejsza i głębsza, a korzyść praktyczna, mianowicie w medycynie, coraz większa.

Ueber die Aufgaben der biologischen Chemie

von

M. Nencki.

Deutsche Uebersetzung.

Wenn Jemand, wie ich, mehr als 30 Jahre sich der wissenschaftlichen Thätigkeit in bestimmter Richtung gewidmet hat, so kommt ihm unwillkürlich der Gedanke, dass die ihm noch verbleibende Zeit kurz ist und dass er einerseits mit den Kräften, andererseits mit den Aufgaben rechnen muss, um die ihm noch vergönnten Augenblicke so gut als möglich auszunutzen und um die in der Methodik erworbene Gewandtheit sowie die materiellen Mittel nicht zu zerstreuen, sondern sie verständig zu concentriren — carpe diem — so spricht zu ihm sein wissenschaftliches Gewissen.

Wenn ich mir vergegenwärtige, was zu Anfang meiner wissenschaftlichen Thätigkeit mir als hohes, schwer erreichbares Ziel vorschwebte, und dies damit vergleiche, was bereits erreicht ist, so kann ich mit Goethe sagen: „Wonach ich mich in der Jugend sehnte, davon habe ich im Alter die Fülle“. Die Synthese von Producten der regressiven Metamorphose, wie z. B. von Xanthinkörpern, Harnsäure und mehreren anderen, die Synthese von Zuckern, die Zerlegung des Eiweisses in krystallinische Producte, deren chemische Constitution fast aller erforscht ist, krystallinisches Eiweiss u. s. w. all dies ist bereits erreicht. Mit der Zeit ist auch dasjenige, das uns als fast uner-

reichbar erschien, in unsere Hände gefallen; wir aber, indem wir immer vorwärts schreiten, wir haben schon andere noch schwerer zu erfüllende Wünsche. Ich zweifle nicht daran, dass diese Ziele vom neuen Forschergeschlecht erreicht werden, dass unsere Nachfolger sich Ziele stecken werden, die wir gegenwärtig nicht einmal ahnen. Es sind neue Wissenschaftszweige entstanden, wie Bacteriologie, Serotherapie; es sind Hunderte neuer Thatsachen bekannt geworden, die auf den Stoffwechsel und auf das Leben überhaupt sowohl von einzelligen Wesen wie auch von complicirteren Organismen sich beziehen. Wenn also die erreichten Resultate uns zur Klarlegung und Erforschung immer schwererer Lebensprobleme ermuthigen, so wäre es lohnend, sich zu vergegenwärtigen, welches nun das Endziel unserer Forschungen in der biologischen Chemie sei.

Die biologische Chemie hat zur Aufgabe die Erkennung nicht nur der Bestandtheile von ein- und mehrzelligen Wesen, sondern auch die Erkennung des Stoffwechsels in diesen Wesen. Auf jedem Schritt kommt uns hier die Frage entgegen: Worin besteht eigentlich die Erscheinung, dass die lebende Zelle sich bildet, ernährt, wächst, sich mehrt und zum Schluss immer, früher oder später, abstirbt, wir aber in der todten Zelle genau dieselben Bestandtheile wie in der lebenden finden? Nehmen Sie z. B., meine Herren, ein lebendes, einzelliges Wesen, wie Hefe, eine Amöbe oder ein weisses Blutkörperchen; in all' ihnen finden wir diejenigen Vorgänge vor, die wir als charakteristisch für das Leben betrachten und zwar: organisatio, nutritio, evolutio, reproductio et mors; erwärmen wir diese Wesen um 10° über das Optimum ihrer Körperwärme, von 40 auf 50°, so wird das lebende Wesen zu einem todten. Intra vitam dieses lebenden Wesens können wir constatiren, dass dasselbe aus Wasser, Eiweiss, Kohlehydraten, Fetten, Extractivstoffen und anorganischen Körpern besteht; die gleichen Bestandtheile, und zwar in gleichem Procentgehalt, finden wir auch im todten Wesen vor. Was ist also eigentlich geschehen? Welche Aenderung erfährt also die Materie beim Uebergang der lebenden Zelle in die todte? Diese Frage wiederholt sich auf jedem Schritt unserer Forschungen und ihre Klarlegung ist das Endziel der biologischen Wissenschaften.

Ist es möglich, dass dieses Ziel erreicht werde? Oder aber, wie Manche behaupten, semper ignorabimus?

Ich kann von vornherein sagen, dass Jeder, der in der Biologie arbeitet, bewusst oder unbewusst dieses Ziel zu erreichen sucht. Was bis jetzt in dieser Richtung gethan worden ist und welche Mittel und Wege in nächster Zukunft werden benutzt werden, dies bildet den Gegenstand meines heutigen Vortrages.

Zunächst ist es erforderlich, dass wir uns in zwei Hauptpunkten verständigen: 1. dass Moleküle, aus denen die Materie besteht, nicht unendlich klein sind, sondern eine bestimmte Grösse haben, und 2. dass, nach dem Gesetz von Avogadro, in gasförmigem Zustande bei gleichem Volumen, bei gleicher Temperatur und gleichem Druck die Anzahl der Moleküle dieselbe bleibt, die Gewichte daher der Körper in gasförmigem Zustande gleich den Molekulargewichten sind. Da z. B. das Gewicht der Essigsäure 30 mal grösser als dasjenige des Wasserstoffes (H_2) ist, so ist auch das Gewicht des Moleküls Essigsäure $C_2H_4O_2$ in gasförmigem Zustande im Verhältniss zu H_2 30 mal grösser.

Aus den Untersuchungen über Diffusion und Reibung der Gase ergab sich, dass z. B. die Moleküle von 1 ccm Wasserstoff, wenn wir uns dieselben neben einander gelegt denken, eine Fläche gleich 9500 qcm gebrauchen. Aus weiteren Berechnungen folgt, dass die Anzahl sämmtlicher in 1 ccm enthaltener Moleküle gleich $5 . 10^{19}$ ist. In dem mikroskopischen Würfel, dessen Kante 0.001 cm lang ist, sind ca. 50 Tausend Millionen Wasserstoffmoleküle enthalten. Der bei der stärksten gegenwärtig erreichbaren Vergrösserung sichtbare geringste Gegenstand ist ungefähr 0.000025 cm gleich. In einem solchen Pünktchen wären beim Druck von einer Atmosphäre immer noch etwa eine Million Wasserstoffmoleküle enthalten (vergl. Ostwald, Allg. Chem. Bd. I, Stöchiometrie S. 222).

Die Thatsache, dass Moleküle eine Grösse, wenn auch dieselbe so ungeheuer klein ist, besitzen, ist sehr wichtig, da hieraus sich ergiebt, dass wir in den Molekülen mit Theilchen der Materie von gewisser, bestimmter Grösse zu thun haben, und wir zu glauben berechtigt sind, dass auch Atome, aus denen Moleküle zusammengesetzt sind, eine gewisse begrenzte Grösse besitzen.

Wie bekannt, kann nur eine verhältnissmässig geringe Anzahl von Körpern ohne Zersetzung des Moleküls in gasförmigen Zustand übergeführt werden. Wir besitzen jedoch eine ausreichend grosse Anzahl von Thatsachen, die uns beweisen, dass, wenn auch zusammengesetzte Verbindungen in gasförmigen Zustand übergeführt werden könnten, dieselben ebenfalls den oben angeführten Gesetzen unterliegen würden. Sehen wir uns nun die weiteren Eigenschaften der Moleküle an.

Ein Molekül nennt Maxwell ein solches Theilchen der Materie, welches während der Bewegung sich als Ganzes bewegt, wenn wir den Mittelpunkt der Masse in Betracht ziehen. Ausser dieser Bewegung giebt es in dem Molekül auch noch eine Bewegung seiner Bestandtheile (Constituenten) in Bezug auf den Mittelpunkt. Wenn wir nun annehmen, dass diese Bestandtheile eben Atome sind, aus denen das Molekül besteht, und dass jedes Atom sich als Punkt bewegt, so muss jedes Atom sich in drei Richtungen des Raumes bewegen und es ist also die Anzahl der Variablen zur Bestimmung der Lage und Configuration der Atome dreimal grösser, als die Anzahl der Atome im gegebenen Molekül.

Berücksichtigen wir nun, dass die Moleküle der meisten organischen Verbindungen aus mehreren Zehnern, Moleküle aber von hoher Zusammensetzung aus mehreren Tausenden von Atomen bestehen, so können Sie, meine Herren, sich vorstellen, wie gross die Verschiedenheit und Verschiedenartigkeit der Configuration der Moleküle sein muss.

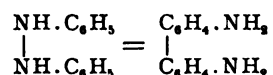
In Molekülen von weniger einfachem Bau, wie z. B. in den Estern (Fetten), in den complicirteren Kohlehydraten, Glucosiden, Eiweisskörpern, in denen mehrere Moleküle, sei es als Anhydride, Polyglucoside, Polyureide u. s. w. vereinigt sind, muss es neben dem Hauptmittelpunkt noch secundäre, tertiäre u. s. w. Centren geben, die für die Bewegung der Atome des ganzen Moleküls maassgebend sind.

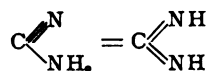
In der That haben sämmtliche Forschungen auf dem Gebiete der organischen Chemie in den letzten 50 Jahren bewiesen und beweisen fortwährend, dass der Charakter der Moleküle vom gegenseitigen Verhältniss der Atome im Molekül resp. von der Bewegung, die die Atome im Molekül ausführen, abhängig ist. Die Ver-

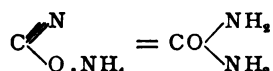
bindung von Kohlenstoff mit Sauerstoff und Wasserstoff in Form von Carboxyl bringt es mit sich, dass ein solches Molekül die Eigenschaften einer Säure besitzt. Andere Configurationsformen bestimmen darüber, ob eine solche Verbindung zu Alkohol, Aldehyd, Keton oder Aether wird; in Verbindungen mit Stickstoff — ob es ein Amid, Nitril, Amin u. s. w. wird. Jedem Chemiker ist es bekannt, dass, wenn im Molekül ein Kohlenstoffatom mit vier verschiedenartigen Atomen oder Atomgruppen verbunden ist, dieses Molekül optisch activ sein wird. Ein solches Kohlenstoffatom ist asymmetrisch. Aller Wahrscheinlichkeit nach beruht auch der Uebergang in magnetischen Zustand auf einer besonderen eigenartigen Bewegung der Atome im Eisenmolekül. Für jeden Chemiker ist es ebenfalls eine bekannte Thatsache, welch' wichtige Rolle die Lage der Seitenketten in aromatischen Verbindungen spielt, und zwar ob dieselbe in einer Ortho-, Meta- oder Parastellung sich befinden. Aus der technischen Chemie wissen wir, dass, wenn in aromatischen Verbindungen zwei negative Seitenketten in der Orthostellung sich befinden, daneben aber noch eine Gruppe von nicht carboxylischem Charakter vorhanden ist, dass solche Verbindungen die Eigenschaft besitzen, Beizen zu färben — dies ist die Theorie der sogenannten beizenziehenden Farbstoffe. Vor Kurzem hat V. Meyer nachgewiesen, dass Orthoverbindungen schwerer sich ätherificiren lassen als analoge Meta- oder Paraverbindungen, und von E. Fischer wurde nachgewiesen, dass Amine, die zwei benachbarte Alkylgruppen besitzen, wohl in tertiäre Basen, nicht aber in sogenannte quaternäre Ammonbasen umgewandelt werden können. Ich könnte eine ganze Reihe anderer Thatsachen anführen, die beweisen, dass die gegenseitige Lage der Atome im Molekül verschiedene charakteristische Eigenschaften dieses letzteren bedingt. Wir müssen uns nun vergegenwärtigen, dass in Molekülen von hoher Zusammensetzung, die aus fünf, zehn oder noch mehreren secundären, tertiären u. s. w. Gruppen bestehen, sämmtliche erwähnte Configurationen vorhanden sein können. Wir wissen z. B., dass im Eiweiss Gruppen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen vorhanden sein müssen, da Eiweisskörper optisch activ sind; es ist übrigens als actives Leucin, Tyrosin u. s. w. ausgeschieden worden; im Eiweiss haben wir drei aromatische Gruppen, nämlich diejenige des Tyrosins, Phenylalanins und der Skatolessigsäure. Bei der Zersetzung des Eiweisses entsteht eine ganze Reihe von ein- und zweibasischen Amidosäuren, dann die Diamidoverbindungen, wie Lysin, Histidin, Arginin u. s. w. Hier ist noch zu erwähnen, dass viele Eiweisskörper in ihrem Molekül auch Kohlehydratgruppen enthalten.

Es ist leicht zu begreifen, dass ein solches Molekül von hoher Zusammensetzung mit verschiedenen Seitencentren in seiner Molekularbewegung als Ganzes in Bezug auf den Hauptmittelpunkt nicht so stabil sein kann, wie einfache Moleküle, die aus einigen oder mehreren Atomen bestehen. Ein solches Molekül von hoher Zusammensetzung ist nicht im Stande, an alle physikalischen Aenderungen sich anzupassen, welche Erscheinung wir bei weniger zusammengesetzten Molekülen vorfinden; das Eiweiss können wir weder in flüssigen noch um so weniger in gasförmigen Zustand überführen. Andererseits wird ein solches Molekül von hoher Zusammensetzung eine ungeheuere Verschiedenheit und Verschiedenartigkeit darbieten in Bezug auf chemische, thermische, elektrische und sogar mechanische Einwirkungen.

Die Existenzbedingungen der Moleküle von so hoher Zusammensetzung werden immer engere sein. Wie ich schon vor mehreren Jahren nachgewiesen habe, wird atmosphärischer Sauerstoff von Eiweiss, ebenso wie von Zucker, in alkalischen Lösungen schon bei gewöhnlicher Temperatur absorbirt. Eiweisslösungen vertragen weder eine Temperatur über 50 bis 70°, noch die Wirkung der wässerigen Lösungen von Alkalien, Säuren und Metallsalzen, des Alkohols u. s. w., ohne dass die Atome ihre Lage im Eiweissmolekül nicht änderten. Die Gerinnung des Eiweisses beim Erhitzen ist ohne Zweifel durch eine Ueberlagerung der Atome im Molekül bedingt. Vielleicht geht in manchen Eiweisskörpern beim Gerinnen noch eine Polymerisation vor sich in dem Sinne, wie z. B. die Polymerisation von Cyansäure in Cyanursäure oder von Aldehyd in Paraldehyd, obwohl beim Gerinnen wahrscheinlicher eine Versetzung der labilen in mehr stabile Configurationen nur in den Seitencentren erfolgt ohne Polymerisation des ganzen Moleküls, wie z. B. die Versetzung des labilen Moleküls von Hydroazobenzol in das mehr stabile von Benzidin

$$\begin{matrix} NH.C_6H_5 \\ | \\ NH.C_6H_5 \end{matrix} = \begin{matrix} C_6H_4.NH_2 \\ | \\ C_6H_4.NH_2 \end{matrix}$$

von Cyanamid in Carbodiimid

$$C\begin{matrix} \equiv N \\ - NH_2 \end{matrix} = C\begin{matrix} = NH \\ = NH \end{matrix}$$

oder von Cyanammonium in Harnstoff

$$C\begin{matrix} \equiv N \\ - O.NH_4 \end{matrix} = CO\begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$$

Je grösser die Empfindlichkeit des Moleküls auf Reagentien ist, um so schwächer wird die potentielle Adhäsionskraft, d. h. um so schwächer ist die sogenannte chemische Verwandtschaft.

In Säften und Ausscheidungen der lebenden Organismen finden sich solche Eiweisskörper in Lösung vor; mehrere von denselben besitzen die Eigenschaft, dass sie in Gegenwart von anderen zusammengesetzten Molekülen im Stande sind, diese letzteren in weniger zusammengesetzte, als sie selbst sind, zu spalten. Solche Eiweisskörper nennen wir hydrolytische Enzyme. Andere sind im Stande, in Gegenwart von Sauerstoff diesen Sauerstoff auf weitere Moleküle zu übertragen. Solche Enzyme werden Oxydasen genannt. Wieder andere Eiweisskörper, die hauptsächlich in lebenden Zellen und nicht in den Ausscheidungen dieser Zellen sich befinden, erfüllen noch complicirtere Functionen. So erhielt vor Kurzem Buchner indem er die Hefezellen auspresste, einen eiweissreichen Saft, der in 40 proc. Zuck[illegible] lösung eine Alkoholgährung hervorruft, d. h. Zucker in Alkoh[illegible] [illegible]lensä[illegible] verwandelt. Cremer bemerkte, dass dieser Hefepresssaft aus Z[illegible] bildet. Wiener constatirte, dass ein aus den Leberzellen der [illegible] Saft Harnsäure bildet, während ein ebenso erhaltener Saft aus [illegible] Harnsäure vernichtet. Solche Vorgänge werden von den Einen [illegible] Enzyme hervorgerufen, von Anderen als die Wirkung [illegible] Protoplasmas in der Lösung betrachtet. Eine ex[illegible]

wird hier schwer. Vielleicht werden uns weitere Forschungen darüber aufklären, dass das lebendige Protoplasma nur eine Mischung von verschiedenen Enzymen ist, oder aber dass das Protoplasma ein ganzes Molekül ist, das verschiedene Functionen erfüllen kann. Ich mache Sie aber auf die Thatsache von ungeheuerer Tragweite hier aufmerksam, dass in solchen aus lebendigen Zellen herausgepressten Lösungen Lebensprocesse vor sich gehen, die wir bis jetzt als ausschliessliche Eigenschaft lebender Wesen betrachteten. Hier verschwindet die Grenze zwischen dem Todten und dem Lebenden. Wie eine gespannte Saite, auf die man schlägt, Schwingungen ausführt, die bei kleiner Amplitude nur für unser Auge sichtbar sind, die aber, wenn die Schwingungsanzahl 32 in der Secunde beträgt, auch unser Ohr als der tiefste hörbare Ton reizen, so ist und wird es meiner Meinung nach vorläufig eine Sache unserer Verständigung sein, ob wir diese Vorgänge eine Wirkung der Enzyme oder des lebendigen Protoplasmas, oder aber des lebendigen Eiweisses resp. Leben nennen werden. Sie können daraus, meine Herren, ermessen, welch' grosse Zukunft Forschungen in dieser Richtung haben und welche Sehnsucht einen Menschen ergreift, der das Arbeitsfeld verlassen muss mit dem Bewusstsein, dass so hohe und wichtige Aufgaben für ein späteres Geschlecht vorbehalten bleiben.

Andererseits aber, als nüchterner Forscher, erkenne ich es als meine Pflicht an, vor vorzeitigen Schlussfolgerungen, in erster Reihe aber vor Verallgemeinerungen zu warnen. In den Naturwissenschaften überhaupt und insbesondere in den biologischen Wissenschaften soll man nie aus einigen oder mehreren bewiesenen Thatsachen ein Gesetz machen. In den letzten Zeiten, in denen eine ganze Reihe Forscher über Enzyme arbeitet, geschehen viele Missbräuche mit den Ausdrücken Enzym, Ferment. So weit wir einige Enzyme näher kennen gelernt haben, sind wir berechtigt zu behaupten, dass dieselben zu den Eiweisskörpern mit labilem Molekül gehören; es wäre aber vorzeitig, die Behauptung aufzustellen, dass sämmtliche Enzyme Eiweisskörper sind. Des weiteren sind Enzyme in reinem Zustande in dem Sinne wie z. B. Alkohol, Harnstoff, Benzoësäure u. s. w. noch von Niemandem erhalten worden. Je mehr wir dieselben von den sogenannten Beimischungen zu befreien suchen, je mehr sie anscheinend gereinigt sind, um so mehr verlieren sie von ihrer Wirksamkeit, was uns die Voraussetzung nahe legt, dass diese angeblichen Beimischungen in der That für die volle Wirksamkeit des Enzyms unentbehrlich sind. Als Beispiel will ich meine Beobachtungen über das Pepsin anführen: Indem man den nach der Methode von Prof. J. Pawlow erhaltenen Magensaft eines Hundes abkühlt, erhält man das Pepsin in Form von Körnchen, die in 0.1 bis 0.5 Proc. Salzsäure Eiweiss energisch verdauen. Diese Körnchen bestehen hauptsächlich aus Eiweiss, Nukleoproteïd, sie enthalten aber ausserdem Salzsäure, Eisenphosphat und Lecithin; durch Dialyse kann man diese letzteren in solchem Maasse aus dem Magensaft ausscheiden, dass der ausgetrocknete Eiweissrückstand nur 0.2 Proc. HCl, 0.3 Proc. $Fe_2(PO_4)_2$ und Spuren von Lecithin enthalten wird. Ein solches Pepsin verdaut eben immer schwächer, als Pepsinkörner vor der Ausscheidung von Lecithin- und Eisenphosphaten.

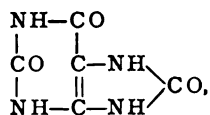
Die Nothwendigkeit der Gegenwart von gewissen, anscheinend fremden Stoffen, damit die Enzyme ihre specifische Wirkung ausüben können, bringt uns deren Ana-

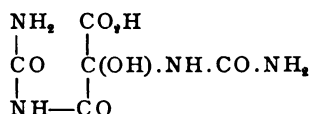
logie mit lebenden Wesen zum Vorschein. In jeder lebenden Zelle befinden sich ausser den Eiweisskörpern auch die für das Leben unentbehrlichen Fette, Lecithine und sonstige organische und anorganische Körper. In so mannigfaltig zusammengesetzten Eiweissmolekülen, die wir in lebenden Zellen vorfinden, ist es übrigens sehr schwer zu unterscheiden, was hier nur mechanische Beimischung und was thatsächlicher Bestandtheil des Moleküls ist. Gegenwärtig zweifeln wohl die meisten biologischen Chemiker nicht mehr daran, dass die sogenannte Asche, d. h. die beim Verbrennen von Eiweiss erhaltenen anorganischen Stoffe, grösstentheils keine Verunreinigung, sondern ein wirklicher Bestandtheil des Moleküls, wie Wasserstoff oder Stickstoff, sind. Viele Moleküle, die zum Bestand von Organismen gehören, verlieren ihre Componenten schon durch die Einwirkung von Wasser, d. h. beim Waschen mit destillirtem Wasser; Hämin z. B. verliert dabei Chlor, und beim längeren Waschen sogar Eisen. In lebenden Wesen, insbesondere aber im thierischen Organismus, begegnen wir auf jedem Schritt Verbindungen, die sehr leicht sogenannte Additionsproducte bilden, wie z. B. Cholalsäure mit Alkohol oder Phenol, Hämin mit Alkoholen und Säuren. Vor Kurzem veröffentlichte Bing eine Arbeit, in der behauptet wird, dass der von Drechsel beschriebene zusammengesetzte Körper, Jekorin genannt, eine additionelle Verbindung des Lecithins mit Zuckern ist und noch früher hat Liebermann in Pest verschiedene derartige Verbindungen von Eiweisskörpern mit Lecithin unter dem Namen von Lecithalbuminaten beschrieben. Es ist also möglich, dass auch in Pepsin das Lecithin, Salzsäure und Eisenphosphat mit dem Eiweiss in einer solchen losen Verbindung sich befinden, die durch die Einwirkung von destillirtem Wasser in ihre Bestandtheile zerlegt wird.

In welcher Configuration der Atome in dem Molekül besteht der Unterschied zwischen dem labilen (lebendigen) und todtem Eiweiss? Hierauf gegenwärtig eine Antwort zu geben, ist sehr schwer und wir besitzen nur Hypothesen, die auf einer verhältnissmässig geringen Anzahl von Thatsachen gegründet sind. Man kann von vornherein sagen, dass die Anzahl dieser Configurationen eine ungeheuer grosse sein muss, indem man nämlich in Betracht zieht das hoch zusammengesetzte Molekül von Proteïnkörpern und die verschiedenartigsten Eiweisskörper, die nicht nur jedem Organismus, sondern auch jeder lebenden Zelle eigen sind. Als Muster der uns besser bekannten labilen Configurationen stellen sich von den organischen Verbindungen die Körper aus der Cyangruppe, dann Aldehyde, Ketone, Azine, Superoxyde, sogenannte ungesättigte Verbindungen u. s. w. dar. Pflüger glaubte, dass der Unterschied zwischen dem lebendigen und todten Eiweiss in der Cyangru
stände. Loew meint — auf Grund seiner Forschungen über Algen
orthospira, nitida u. a.), bei denen er bemerkte, dass lebe
dünnte alkalische Silberlösungen energisch reducirt, eine
teristische Reaction, nach Uebergang jedoch zum todten
verliert, — dass für das lebendige Eiweiss die Aldehydgr
Beim Uebergang zum todten Zustande, unter dem Einfluss v
elektrischen oder mechanischen Einwirkungen, ändert
lage in Bezug auf Kohlenstoff, indem er in eine stab

Zahlreiche und sorgfältige Arbeiten von L o e w sprechen dafür, dass im lebendigen Eiweiss von Spirogyra die Aldehydgruppe, wenn nicht der einzige, so doch ein wichtiger Factor sei. Die Anwendung dieser Aldehydtheorie auf alle Formen des labilen Eiweisses erwies sich jedoch als ein zu enger Begriff. Die Forschungen in dieser Richtung sind für die Zukunft als die wichtigsten in der biologischen Chemie anzusehen, da die Lebensvorgänge auf einer labilen Configuration solcher zusammengesetzter Moleküle und auf einer eigenartigen Bewegung der Atome in diesen Molekülen beruhen. Es ist eine Thatsache, dass Wasser, Sauerstoff und eine unbedeutende Temperaturerhöhung die Hauptfactoren beim Uebergang des todten oder, genauer gesprochen, des i n e r t e n in lebendiges Eiweiss sind, wie dies die Vorgänge beim Uebergang von latenten (vie latente) in offenbares Leben (vie manifestée) beweisen, welche wir nicht nur im Pflanzensamen, sondern auch in niederen Thierorganismen, wie Infusorien, Rotifera, Tardigrada, oder beim Weizenälchen (Anguillula tritici) beobachten. Die Forschungen und Beobachtungen in dieser Frage stellte Cl. Bernard in seiner interessanten Monographie „Leçons sur les phénomènes de la vie" (S. 65 bis 124) zusammen.

Wie tief und von welchem Charakter die Aenderungen der organischen Moleküle bei verhältnissmässig niedriger Temperatur, aber bei Mitwirkung der Luft und Wasser sind, illustrirt eine von mir schon längst gemachte Beobachtung an der Harnsäure. Dieser Körper vom Bau:

```
NH—CO
|    |
CO   C—NH\
|    ||    >CO,
NH—C—NH/
```

dessen Molekül, wie ich sagen möchte, compact ist, geht in alkalischer Lösung bei Luftzutritt in kurzer Zeit bei einer Temperatur von 37 bis 40^0 bei Aufnahme in das Molekül von Wasser und Sauerstoff in Uroxansäure über: $C_5H_4O_3N_4 + 2H_2O + O = C_5H_8O_6N_4$. Der Bau dieser Säure ist aller Wahrscheinlichkeit nach folgender:

```
NH2  CO2H
|    |
CO   C(OH).NH.CO.NH2
|    |
NH—CO
```

Es ist möglich, dass der Charakter der Aenderungen der Moleküle von Eiweisskörpern, die in alkalischer Lösung schon bei gewöhnlicher Temperatur Sauerstoff aus der Luft absorbiren, ein ähnlicher ist.

Es ist nun die Frage interessant, ob solche labile Eiweissmoleküle, wie Enzyme, Toxalbumine und Antitoxine, eine unbeschränkte oder eine verhältnissmässig lange Zeit erhalten werden könnten, ohne ihre specifische Thätigkeit zu verlieren? Karge Forschungen in dieser Richtung zeigen wiederum die Aehnlichkeit zwischen lebenden Wesen und dem labilen Eiweiss. Manche Enzyme, wie Chymosin (Labferment) oder Trypsin, bei niedriger Temperatur ausgetrocknet, werden nach Jahren in Wasser gelöst und setzen das Caseïn nieder, resp. peptonisiren Eiweiss. Es ist dies eine Analogie mit dem oben erwähnten latenten Leben von Samen und Infusorien. In wässerigen Lösungen, bei Zutritt von Licht und Luft, verlieren sie nach kürzerer oder

längerer Zeit ihre specifischen Eigenschaften, in ihrem labilen Molekül erfolgt eine Versetzung der Atome in eine stabilere Configuration, man könnte sagen, dass sie absterben. Von den fünf für jedes lebende Wesen charakteristischen Vorgängen, d. h. Organisation, Ernährung, Entwickelung, Fortpflanzung und Absterben, wäre nur dieser letztere, d. h. die Vergänglichkeit, sowohl den organischen Wesen, wie auch dem lösbaren lebenden Eiweiss gemeinsam.

Dies sind in allgemeinen Umrissen die Hauptprobleme der biologischen Chemie. Dass wir auch das einfachste, einzellige lebende Wesen in unseren Laboratorien erschaffen könnten, davon ist gegenwärtig nicht zu träumen; aber schon die Ueberzeugung allein, dass es so ist, bedeutet einen Fortschritt, da sie beweist, dass wir uns Rechenschaft abgeben von den Schwierigkeiten, die auf dem Wege der Forschung uns entgegentreten. Gegenwärtig ist unser Streben hauptsächlich dahin gerichtet, dass wir auf künstlichem Wege solche labile Eiweisskörper erhalten, die die Eigenschaften von Enzymen hätten. Auch diese Aufgabe erscheint uns als nur in ferner Zukunft lösbar. Aber auch hier ist es schwer, Prophet zu sein. Die intensive Arbeit auf diesem Gebiete einer so grossen Anzahl von Arbeitern der ganzen Culturwelt kann meiner Meinung nach dieses Ziel früher verwirklichen. Die Fortschritte der Biologie hängen von den Fortschritten der ebenfalls experimentellen Wissenschaften, wie Physik, Chemie und Morphologie ab. Hauptaufgabe der biologischen Chemie ist die Klarlegung des Lebensprocesses, welche Aufgabe am leichtesten an einzelligen Wesen zu bearbeiten ist. Dies ist jedoch nicht die einzige Aufgabe. Die Aufklärung der Lebensprocesse in complicirteren Organismen bildet ebenfalls unser Ziel, dies ist aber ein ungeheueres, fast unbegrenztes Gebiet. Hier stellen wir zur Erkennung der besonderen Function eines jeden Organs zur Aufklärung, inwiefern die ein gewisses Organ bildenden Zellen vom ganzen Organismus abhängig sind, oder inwiefern dieselben eine gewisse individuelle Unabhängigkeit besitzen; wie lange sie leben, wie sie sich nähren und fortpflanzen? Durch Forschungen der letzten Jahre an weissen Blutkörperchen von Thieren z. B. wurde nachgewiesen, dass diese Elemente in vielen Beziehungen unabhängige Wesen sind. Dieselben absorbiren Fette, verdauen Eiweiss und Stärke ganz selbstständig; des weiteren bewachen sie den ganzen Organismus vor fremden, schädlichen Verbindungen, vor krankheitsbildenden Organismen, übertragen unlösliche Substanzen von einem Organ auf ein anderes, man könnte sagen, dass sie im Körper des Thieres die Aufgabe einer Post und einer Sicherheitspolizei erfüllen. Die Anzahl der auf Lösung wartenden Aufgaben ist unendlich gross, und der einzelne Forscher kann nicht, nachdem er sein ganzes Leben durch gearbeitet hat, die Worte Seneka's wiederholen: „Si quis totam diem currens pervenit ad vesperum, satis est“, denn er sieht, wie die Geschlechter eins nach dem anderen weiter schreiten und arbeiten müssen, das Ziel aber ihrer Forschungen nicht erblicken werden. Dafür wird aber unsere Wissenschaft immer weiter und tiefer und der praktische Nutzen, namentlich in der Medicin, immer grösser.

Untersuchungen über den Blutfarbstoff

von

M. Nencki und **J. Zaleski.**

(Hierzu Tafel VI.)

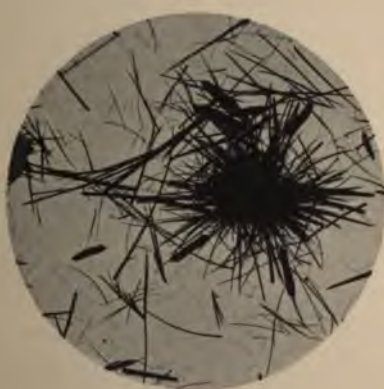
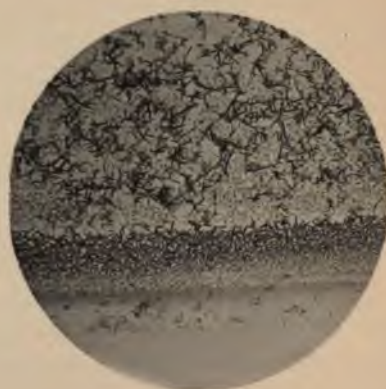
Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 384. Der Redaction zugegangen am 9. Juli 1900.

I. Ueber die Aether des Hämins.

Es sind nahezu 50 Jahre seit der Entdeckung der Häminkrystalle durch Teichmann verflossen, und bis auf den heutigen Tag sind die Chemiker über die Zusammensetzung dieses Körpers nicht einig. Wohl findet jeder Autor, dass die nach dem von ihm ausgearbeiteten Verfahren dargestellten Häminkrystalle bei den Elementaranalysen unter einander übereinstimmende oder nahezu übereinstimmende Zahlen ergeben, die aber mit den Analysen seiner Vorgänger nicht übereinstimmen. Da bei der Reinigung und Analyse seines Präparates der Autor es an der nöthigen Sorgfalt nicht fehlen liess und das Präparat bei der mikroskopischen Besichtigung ihm keine fremden Beimengungen und mehr oder weniger homogene Krystalle zeigt, so kommt er meistens zu dem Schlusse, dass die Präparate seiner Vorgänger noch nicht hinreichend von fremden Beimengungen befreit wurden, jedenfalls nicht so rein wie das seinige waren. Hier und da wurde die Ansicht ausgesprochen, dass es verschiedene Hämine geben muss, warum aber bei verschiedenen Darstellungsmethoden verschiedene Hämine erhalten werden, war bis jetzt unbekannt.

Seit den ersten im Jahre 1884 publicirten Untersuchungen von M. Nencki und N. Sieber über das Hämin und das Hämatin sind nach einer längeren Pause in den letzten Jahren zahlreiche Arbeiten über diesen Gegenstand erschienen, so namentlich die von W. Küster und seinen Mitarbeitern, von M. Cloetta[1]), M. Białobrzeski[2]), K. A. H. Mörner[3]), M. Chalféïeff[4]), Cazeneuve und Breteau[5]) und M. Rosenfeld[6]). In den meisten dieser Arbeiten sind werthvolle Beiträge zur Kenntniss dieses Farbstoffes enthalten. Die Thatsache, dass das Hämin kein salzsaures Salz des Hämatins ist, sondern dass im Hämin das Chlor an Kohlenstoff oder Eisen gebunden ist, wird nicht mehr bezweifelt. Uebereinstimmend wird angegeben, dass das Chlor des Hämins durch langes Waschen mit heissem Wasser fast vollständig entfernt resp. durch Hydroxyl ersetzt, ebenso dass auch das Eisen des Hämins durch Alkalien in der Wärme theilweise abgespalten wird. Die Angabe

[1]) Archiv für exper. Path. u. Pharm. **36**, 349 (1895).
[2]) Ber. **29**, 2842. — Dieser Band S. 572.
[3]) Nordiskt med. Arkiv, Festband 1897, Nr. 1 u. 26.
[4]) Le physiologiste russe **1**, 15 (1898).
[5]) Bull. soc. chim. **21—22** (1899).
[6]) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **40**, 137.

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn in Braunschweig.

von Cloetta und Rosenfeld, dass im Hämin auf ein Atom Eisen nur drei Atome Stickstoff enthalten sind, wurde als durch die Einwirkung von concentrirter SO_4H_2 auf das Hämin resp. durch die Schwierigkeit, bei den Elementaranalysen aus dem Hämin allen Stickstoff auszutreiben, hinreichend als unrichtig aufgeklärt.

Für das Verständniss der wahren Ursache, warum von verschiedenen Autoren je nach dem Darstellungsverfahren Hämine von verschiedener procentischer Zusammensetzung erhalten werden, war in der Häminforschung noch ein weiterer Schritt nothwendig, nämlich die Erkenntniss der im Nachfolgenden zu begründenden Thatsachen, dass im Häminmolekül zwei Hydroxyle enthalten sind und dass dieser Farbstoff nicht allein mit ausnehmender Leichtigkeit mit Säure- und Alkylradicalen Aether, sondern selbst mit indifferenten Verbindungen Additionsproducte bildet.

Der Eine von uns und N. Sieber waren die ersten, welche constatirten, dass die mit salzsäurehaltigem Amylalkohol aus dem Blute extrahirten Häminkrystalle in ihrem Molekül Amylalkohol enthalten, und wir haben schon damals vorausgesagt, dass die mit Eisessig bereiteten Krystalle in ihrem Molekül Essigsäure enthalten werden. Dies ist auch hernach von F. Hoppe-Seyler[1]) bestätigt worden. Diese Thatsachen wurden aber von den späteren Forschern wenig beachtet, obgleich die Verwendung von Alkohol und Mineralsäuren bei der Darstellung der Häminkrystalle wohl den Verdacht erwecken sollte, dass ein geringer Theil des Hämins ätherificirt werden könnte. Der Gedanke, dass die Verschiedenheit der Hämine dadurch bedingt ist, dass dem Hämin par excellence von der Zusammensetzung $C_{32}H_{31}ClN_4O_3Fe$ mehr oder weniger Additionsproducte oder Aetherarten beigemischt sind, wurde uns sehr wahrscheinlich, als wir, anlässlich der in unserem Laboratorium ausgeführten Arbeit von M. Bialobrzeski[2]), die Beobachtung machten, dass Häminlösungen in Amylalkohol, der etwas Chlorwasserstoff enthielt, längere Zeit erhitzt, ein Product lieferten, das sich in Alkalien nicht mehr löste. Wir haben daher, zum Theil gemeinschaftlich mit Hrn. mag. pharm. L. Różycki, die Untersuchung über das Hämin nach dieser Richtung hin wieder aufgenommen, und es ist uns gelungen, mehrere Aether des Hämins rein darzustellen und so verschiedene, anscheinend widersprechende Angaben über das Hämin und Hämatin aufzuklären.

Bevor wir jedoch zur Beschreibung der von uns erhaltenen Verbindungen übergehen, ist es zweckmässig, um Wiederholungen zu vermeiden, einige Worte über die analytischen Methoden vorauszuschicken.

Nicht allein die Reindarstellung der so leicht veränderlichen und zersetzlichen Körper ist mit besonderen Schwierigkeiten verbunden, auch die Elementaranalysen der Häminpräparate erfordern gewisse Cautelen, deren Nichtbeachtung zu irrigen Schlüssen führen kann. Es betrifft dies namentlich die Ermittelung des Stickstoffgehaltes. Wir haben schon früher hervorgehoben, dass in den Hämin- und Hämatoporphyrinpräparaten bei der volumetrischen Bestimmung das Stickstoffgas erst beim directen Glühen mit Kupferoxyd entweicht und dass es stundenlangen, anhaltenden

[1]) Ber. **18**, 603.
[2]) Ibid. **29**, 2842.

Erhitzens eines innigen Gemisches mit pulverigem Kupferoxyd bis zur Weissgluth bedarf, um allen Stickstoff aus der Substanz zu erhalten. In dieser Hinsicht leisten die schwer schmelzbaren Röhren aus Jenaer Glas vortreffliche Dienste und kann das gleiche Rohr mehrere Male benutzt werden. Verbrennungen der Häminpräparate unter Zusatz von chromsaurem Blei sind nicht zu empfehlen, da dann dem aufgefangenen Stickstoff Sauerstoff beigemischt ist, der nachträglich entfernt werden muss. Den gleichen Schwierigkeiten begegnet man, wie Mörner hervorhebt, bei der Stickstoffbestimmung in Häminpräparaten nach Kjeldahl. Nach der ursprünglichen Kjeldahl'schen Methode (Erhitzen mit Schwefelsäure nebst Phosphorsäureanhydrid, bis die Flüssigkeit nur noch schwach gefärbt war, und Oxydation mit Kaliumpermanganat) wurden stets, auch bei sehr andauerndem Erhitzen, zu niedrige Stickstoffwerthe erhalten, dies um so mehr, je kürzer die Erhitzung war. Wenn nach Wilfarth die Zersetzung bei der Gegenwart von Quecksilberoxyd ausgeführt wurde und das Erhitzen nicht nur so lange, bis Entfärbung eintrat, sondern noch einige Stunden länger bei schwachem Sieden der Schwefelsäure fortgesetzt wurde, erhielt Mörner Werthe, die mit den nach der volumetrischen Methode erhaltenen übereinstimmten. Bei kürzerem Erhitzen wurden viel zu niedrige Resultate erhalten: — 7.18 statt 8.28 Proc. N und 7.44 statt 8.39 Proc. N (vergl. Mörner, Nordiskt medicinskt Arkiv, Festbd. Nr. 1, S. 6).

Dieser Umstand war für Einen von uns Veranlassung zu untersuchen, ob im Häminmolekül ausser Stickstoff nicht etwa Argon enthalten sei[1]). Das Resultat war negativ. Aller Wahrscheinlichkeit nach bilden sich beim Erhitzen der Hämatinpräparate Producte, wie z. B. das Paracyan, aus welchem nur schwierig der Stickstoff abspaltbar ist.

Chlor und Eisen haben wir in gleicher Portion durch Erhitzen mit NO_3H und NO_3Ag in zugeschmolzenem Rohre bestimmt. Da das Chlor durch die Waschflüssigkeiten aus den Häminpräparaten entfernt wird, so empfiehlt es sich, den betreffenden Flüssigkeiten (Alkohol, Aceton, Wasser) 0.5 bis 0.1 Proc. HCl zuzusetzen. Beim Trocknen der Substanz, Anfangs zwischen Fliesspapier, später über concentrirter SO_4H_2 und Aetznatron in vacuo, entweicht der überschüssige Chlorwasserstoff vollständig. Es empfiehlt sich ferner, wenn der Häminniederschlag Anfangs z. B. mit Alkohol, später mit Wasser ausgewaschen werden soll, den Alkohol stufenweise zu verdünnen, indem man Anfangs 50 proc., dann 30 proc., dann 10 proc. Alkohol und zuletzt Wasser zum Auswaschen verwendet.

Wie weiter unten gezeigt werden wird, krystallisiren die verschiedenen Hämine in verschiedenen Systemen. So gehören die Krystalle des Acethämins dem triklinischen Systeme an, während die Aether des Hämins mit Alkylradicalen verschiedene Formen des rhombischen Systems zeigen. Eine mikroskopische Untersuchung im Polarisationsmikroskope, wie es für mikrokrystallographische Messungen verwendet wird, belehrt uns sofort, ob wir es mit einer einheitlichen Substanz oder einem Gemische verschiedener Hämine zu thun haben.

---

[1]) J. Zaleski, Ber. **30**, 965. — Dieser Band S. 601.

Vorzügliche Dienste hat uns die Zeisel'sche[1]) Methode der Methoxyl-, eigentlich Alkyloxylbestimmung, geleistet. Obgleich wir, speciell bei dem Hämin- und Hämatoporphyrinäther, auch bei Präparaten, deren Elementaranalyse scharf mit der berechneten Formel übereinstimmte, manchmal ein Deficit von 0.4 bis 1 Proc. von den theoretischen Werthen hatten, so konnten wir immer mit hinreichender Schärfe bestimmen, ob die betreffende Verbindung ein oder zwei Hydroxyle enthält. Den Grund dieses Deficits haben wir nicht aufgeklärt. Wir haben das aus dem Alkyljodid erhaltene AgJ nach dem kürzlich von L. Vanino und O. Hauser[2]) beschriebenen Verfahren mit der Pottasche-Formaldehydlösung auf etwaigen Gehalt an Chlorsilber wiederholt geprüft. Die filtrirte mit heisser Salpetersäure versetzte Lösung gab mit Salzsäure keinen wägbaren Niederschlag. Dem erhaltenen AgJ war demnach kein AgCl, etwa von dem Chlor des Hämins herstammend, beigemischt. Nach der Methode von J. Herzig und H. Meyer[3]) haben wir auch constatiren können, dass in den Häminen kein Alkyl an Stickstoff gebunden ist und folglich der Stickstoff hydrolytisch aus den Häminen nur als Ammoniak abgespalten werden kann

Acethämin.

In dem in Moskau in französischer und deutscher Sprache von Prof. Morochowetz herausgegebenen Journal „Le physiologiste russe“[4]) hat Herr Schalfejeff die interessante Beobachtung mitgetheilt, dass die aus defibrinirtem Blute bei Erwärmen mit Eisessig erhaltenen Häminkrystalle durch Auflösen in chininhaltigem Chloroform — auf 1 g Hämin 1 g Chinin in 50 g Chloroform — und Vermischen der Lösung mit salzsäure- oder essigsäurehaltigem Alkohol umkrystallisirt werden können. In chininhaltigem Chloroform löst sich das Hämin bei gelindem Erwärmen während 10 bis 15 Minuten, mit Hinterlassung eines wenig gefärbten, geringen Rückstandes, von Schalfejeff „carcasse“ genannt, allmählich auf; und wenn die davon abfiltrirte warme Lösung mit essig- oder salzsäurehaltigem Alkohol langsam unter Umrühren versetzt wird, so bilden sich alsbald die charakteristischen Krystalle, auf die wir später noch zurückkommen werden. Man erhält circa 85 Proc. der angewandten Krystalle wieder; etwa 6 Proc. bleiben in Chloroform ungelöst als „carcasse“ zurück; der Rest ist in der Mutterlauge der Krystalle gelöst. Schalfejeff ist der Ansicht, dass das Hämin aus zwei Substanzen besteht, wovon die eine — die „carcasse“ — ungefärbt ist und nur wenig Eisen enthält, während die andere — die aus dem Chloroform und angesäuertem Alkohol abgeschiedenen Krystalle — stark eisenhaltig ist. Elementaranalysen der Krystalle oder der „carcasse“ wurden von Schalfejeff nicht gemacht.

Bei der Wiederaufnahme unserer Untersuchungen über das Hämin haben wir schon anlässlich der Arbeit des Herrn Białobrzeski gesehen, dass die Ausbeute an

[1]) Vergl. hierüber: Anleitung zur quantitativen Bestimmung der organischen Atomgruppen von Dr. Hans Meyer, Berlin 1897, S. 45.

[2]) Ber. **32**, 3615.

[3]) Vergl. Hans Meyer, l. c. S. 72 und Wiener Monatshefte für Chemie **15**, 613 und **16**, 599.

[4]) Le physiologiste russe. **1**, 15. Moscou 1898.

Hämin nach der Vorschrift von Schalfejeff eine grössere als bei der Extraction des Hämoglobins mit Amylalkohol ist. Allerdings ist die Operation auch viel kostspieliger. Wir haben für unsere Untersuchung, sowie für die Darstellung des Hämatoporphyrins, mehr als ein halbes Kilo Hämin durch Extraction des Blutes mit Eisessig dargestellt und einen grossen Theil davon entweder in ammoniakalischem Alkohol oder in chininhaltigem Chloroform nach Schalfejeff gelöst und in beiden Fällen aus Eisessig umkrystallisirt. Nach unseren Erfahrungen ist folgendes Verfahren das zweckmässigste, um ein Product, dass wir Acethämin nennen werden, zu erhalten. In einen Liter Eisessig wird pulveriges Kochsalz, bis bei Zimmertemperatur nichts mehr davon gelöst wird, eingetragen und die Lösung auf dem Wasserbade auf 90 bis 95° erwärmt. Jetzt wird zu dem Eisessig 200 ccm frisches, defibrinirtes und durch Mousseline filtrirtes Blut — wir benutzten meistens Rinder- oder Pferdeblut — zugesetzt. Die Mischung wird unter häufigem Umrühren noch zehn Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und, wenn die Temperatur der Lösung wieder 85 bis 90° erreicht hat, durch Mousseline in hohe Bechergläser filtrirt. Schon während des Filtrirens scheiden sich, mit geronnenen Eiweisspartikelchen vermischt, die rothviolett glitzernden Krystalle des Hämins auf dem Mousseline ab. Der Verlust ist aber gering und dafür erhält man ein viel reineres Präparat. Nach 24stündigem Stehen wird die Essigsäure abgegossen und der Bodensatz von Krystallen vier bis fünf Mal mit Wasser übergossen, Anfangs durch Decantation, schliesslich auf dem Filter mit Wasser, später mit 60- bis 70 proc. Alkohol nachgewaschen und die Krystalle in vacuo über SO_4H_2 getrocknet. Aus 100 Liter Eisessig und 20 Liter Blut werden durchschnittlich 110 g Hämin, d. h. gegen 5.5 g aus einem Liter Blut, erhalten. Zu erwähnen wäre noch, dass Ueberschuss von Kochsalz, selbst wenn bei 90° nicht Alles gelöst ist, keine störende Wirkung hat. Die Häminkrystalle fallen dann beim Erkalten mit Kochsalz vermengt aus, welch' letzteres durch Waschen mit Wasser leicht entfernt wird. Mehr als 200, höchstens 220 ccm Blut auf einen Liter Eisessig zu nehmen, ist nicht rathsam; die Ausbeute wird dadurch nicht grösser und der Farbstoff fällt weniger rein, zum Theil amorph aus.

In wässerigen Alkalien ist der getrocknete Farbstoff leicht löslich und wird daraus durch Säuren als Hämatin amorph gefällt. In alkoholischen Lösungen von Ammoniak oder organischen Basen, wie Chinin, Trimethylamin, Pyridin u. s. w., ist dieses Hämin ebenfalls löslich und kann daraus unter bestimmten Umständen, auf die wir gleich zu sprechen kommen, krystallinisch erhalten werden. Man kann daraus Hämin von gleicher Krystallform wie die erste Krystallisation, oder je nach dem Zusatz von Mineralsäure und verschiedenen Alkoholen Krystalle von ganz verschiedener Form und Zusammensetzung erhalten.

Um die so erhaltenen Krystalle, die wir als Rohacethämin bezeichnen wollen, umzukrystallisiren, müssen sie zunächst gelöst werden. Zu dem Zwecke werden 15 Vol. 96 proc. Alkohol mit 4 Vol. Wasser und 1 Vol. wässerigem Ammoniak (spec. Gewicht 0.91) versetzt und 40 bis 60 ccm davon für je 1 g Hämin verwendet. Nach einer viertel bis halben Stunde bei Zimmertemperatur und häufigem Umschütteln ist die Hauptmenge des Hämins gelöst mit Hinterlassung von geringen Mengen corrodirter Häminkrystalle, hauptsächlich aber wenig gefärbter amorpher

Partikel. Die filtrirte ammoniakalische Lösung wird jetzt in auf 105 bis 115° vorgewärmten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig in kleinen Portionen eingetragen — 4 bis 6 Vol. Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung. Wird weniger Eisessig genommen, so erfolgt die Krystallisation sofort; die Krystalle sind aber klein und mit amorphen Körnern vermengt. Bei mehr als 6 Vol. Eisessig auf 1 Vol. der ammoniakalischen Lösung bleibt viel vom Hämin in der Lösung zurück oder es scheiden sich überhaupt keine Krystalle aus.

Die Auflösung der Krystalle kann statt durch NH_3 durch Chinin geschehen, dann ist es aber zweckmässig, statt Alkohol Chloroform zu verwenden. Die besten Verhältnisse sind die von Schalfejeff angegebenen: Auf 1 g Hämin 1 g Chinin in 40 bis 50 g Chloroform gelöst und auf 1 Vol. der filtrirten Lösung 4 bis 6 Vol. des heissen mit Kochsalz gesättigten Eisessigs. Das Eingiessen der Chloroformlösung muss, namentlich bei Arbeiten mit grösseren Quantitäten, in dünnem Strahle und unter fortwährendem Umrühren, um Ueberschäumen zu verhüten, geschehen.

Nach dem einen wie nach dem anderen Verfahren erhält man für 10 g des Rohproductes 6 bis 8 g des umkrystallisirten Hämins. Es ist besser, die alkalischen Lösungen nicht zu erwärmen; allerdings 10 bis 15 Minuten langes Erwärmen der Chloroformlösung auf 40 bis 50° beschleunigt die Auflösung des Hämins und das umkrystallisirte Product ist rein und von der charakteristischen Krystallform, aber die Ausbeute wird geringer. Beim längeren Erwärmen der alkalischen Lösungen werden überhaupt keine Krystalle erhalten. Nach mehrwöchigem Stehen selbst bei Zimmertemperatur verlieren namentlich die ammoniakalischen Lösungen die Fähigkeit, Krystalle zu bilden, offenbar weil alles Hämin in Hämatin übergegangen und zum geringen Theil auch Eisen abgespalten ist. Ein höherer Ammoniakgehalt, auch in der Kälte, ist ebenfalls von Schaden. Statt 70proc. stärkeren oder absoluten Alkohol anzuwenden,. hat den Nachtheil, dass das Hämin sich darin weniger löst und zur völligen Lösung mehr Flüssigkeit resp. mehr NH_3 erforderlich ist. Es ist nöthig, genau die mitgetheilten Vorschriften zu beachten, widrigenfalls ist die Ausbeute viel geringer, die Krystalle sind mit amorphen Körnern vermengt oder es scheiden sich beim Erkalten überhaupt keine Krystalle aus.

Statt mit Eisessig haben wir in einigen Versuchen die alkalischen Lösungen mit dem vier- bis sechsfachen Volumen auf 100° erwärmter Ameisensäure, normaler Buttersäure und Milchsäure vermischt. Nur aus Buttersäure erhielten wir wohl ausgebildete Krystalle von der gleichen Form und Zusammensetzung wie die aus Eisessig. Aus Milchsäure waren die Krystalle sehr klein, anscheinend von gleicher Form wie die aus Eisessig; ihr Auslöschungswinkel war bei etwa 28°.

Bei den Elementaranalysen des umkrystallisirten Acethämins erhielten wir folgende Zahlen:

I. Acethämin aus Rinderblut mit Eisessig erhalten, durch Auflösen in alkoholischem NH_3 und Vermischen mit kochsalzhaltigem, auf 108° erwärmtem Eisessig umkrystallisirt. Die abgeschiedenen Krystalle wurden mit Wasser, hierauf stufenweise mit verdünntem, bis zu 80proc. Alkohol gewaschen. Das Wasser wie der Alkohol enthielten 2 pro mille HCl. Das Präparat wurde in vacuo über SO_4H_2 und NaC bis zu constantem Gewichte getrocknet. Hier wie in den nachfolgend-

wurden die Verbrennungen für C und H mit CuO gemacht in der Art, dass das zugeschmolzene Rohr hinten und vorn mit granulirtem CuO beschickt, in der Mitte aber die abgewogene Substanz innig mit pulverigem Bleichromat gemischt wurde. Der Stickstoff wurde über 30 proc. KOH aufgefangen und die dadurch verminderte Spannkraft des Wasserdampfes vom Barometerstande abgezogen.

0.2487 g gaben 0.1149 g H_2O und 0.5706 g CO_2 = 5.14 Proc. H und 62.58 Proc. C.
0.2555 g gaben 19.1 ccm N-Gas bei 19.0° T. und 762 mm Bst. = 8.66 Proc. N.
0.3085 g gaben 23.1 ccm N-Gas bei 18.2° T. und 758 mm Bst. = 8.65 Proc. N.
0.8199 g gaben 0.1869 g AgCl und 0.1014 g Fe_2O_3 = 5.64 Proc. Cl und 8.66 Proc. Fe.
0.7013 g gaben 0.1548 g AgCl und 0.0874 g Fe_2O_3 = 5.46 Proc. Cl und 8.72 Proc. Fe.

II. Acethämin in chininhaltigem Chloroform gelöst und durch Vermischen der Lösung mit heissem Eisessig auskrystallisirt.

0.2322 g gaben 17.3 ccm N-Gas bei 18.0° T. und 755 mm Bst. = 8.58 Proc. N.
0.4894 g gaben 0.1060 g AgCl und 0.0601 g Fe_2O_3 = 5.35 Proc. Cl und 8.60 Proc. Fe.

III. Acethämin in alkoholischem Ammoniak gelöst und die Lösung mit kochsalzhaltiger, auf 125° erhitzter Buttersäure vermischt. Die abgeschiedenen Krystalle wurden zuerst in vacuo und hierauf bei 105° getrocknet. Der Gewichtsverlust bei 105° betrug 0.2 Proc.

0.3229 g gaben 0.1585 g H_2O und 0.7393 g CO_2 = 5.45 Proc. H und 62.43 Proc. C.
0.2694 g gaben 0.1330 g H_2O und 0.6177 g CO_2 = 5.49 Proc. H und 62.52 Proc. C.
0.2312 g gaben 17.2 ccm N-Gas bei 15.5° T. und 755 mm Bst. = 8.66 Proc. N.
0.4344 g gaben 0.0963 g AgCl = 5.48 Proc. Cl.
0.6114 g gaben 0.1359 g AgCl und 0.0766 g Fe_2O_3 = 5.50 Proc. Cl und 8.77 Proc. Fe.

In Procenten wurden gefunden:

C	62.58	—	—	62.43	62.52
H	5.14	—	—	5.45	5.49
N	8.65	—	8.58	8.66	—
Cl	5.64	5.46	5.35	5.48	5.50
Fe	8.66	8.72	8.60	—	8.77

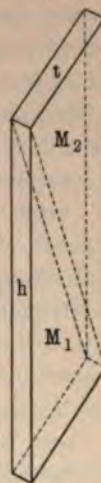
Die Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ Aeq. 652, 5 verlangt:

C	62.53 Proc.
H	5.06 „
N	8.59 „
Cl	5.44 „
Fe	8.59 „

Die analysirten Krystalle waren vollkommen homogen, frei von jeder fremden Beimischung. Herr Dr. Weyberg, Custos der mineralogischen Sammlung an der Warschauer Universität, hatte die Freundlichkeit, das von uns analysirte Acethämin krystallographisch zu untersuchen, und hat uns darüber Folgendes mitgetheilt:

„Mikroskopische dünne Blätter und Säulchen des triklinischen Systems. Die grössten von ihnen sind 0.2 mm lang und 0.05 mm breit; in auffallendem Lichte von schwachem halbmetallischem Glanze, in durchgehendem Lichte dunkelbraun und wenig durchsichtig. Mit einem Nicol'schen Prisma untersucht, zeigen sie trotz der unbedeutenden Dicke einen sehr starken Pleochroismus, in der Längsrichtung dunkelbraun, fast violett, in der Breite hellbraun, fast strohgelb. Die Krystalle sind stark

doppeltbrechend, optisch negativ. In Folge des starken Pleochroismus kann der Charakter der Doppelbrechung und der Auslöschungswinkel nur an den dünnsten und daher kleinsten Krystallen gemessen werden, was die Genauigkeit bedeutend verkleinert. In 20 Messungen wurde der Auslöschungswinkel von 36 bis 30⁰ gefunden. Aus gleichem Grunde können auch die optischen Hauptrichtungen nicht genau bezeichnet werden. Auf den ersten Blick erinnert der Habitus der Krystalle und ihrer sternähnlichen Durchkreuzungszwillinge an die Gypsgestalten. Am häufigsten ist die Form der Abbildung Nr. 2 von Prof. Lagorio[1]) entsprechend. Bei der Betrachtung im auffallenden Lichte im Reichert'schen Mikroskope zur Untersuchung der Oberfläche undurchsichtiger Körper ergiebt sich, dass die Ebene M in der Zeichnung von Lagorio eigentlich aus zwei Ebenen M_1 und M_2 besteht[2]). Die Ebenen M_1 und M_2 bilden einen sehr stumpfen Winkel, weshalb sie in durchfallendem Lichte den Eindruck einer Fläche machen. Die Fläche t ist meistens sehr stark corrodirt und hat unregelmässige Vertiefungen. Die Krystalle sind so dünn, dass die Ebene h kaum bemerkbar ist. Wegen der Corrosion der Flächen, ihrer Kleinheit und des schwachen Glanzes konnte eine genauere Messung der Flächen- und Kantenwinkel nicht ausgeführt werden. Der Habitus der Krystalle stimmt mit den Zeichnungen des Professors Lagorio und die Grösse des von ihm gemessenen Auslöschungswinkels stimmt ebenfalls mit meinen Messungen überein, so dass die von Prof. Lagorio und mir untersuchten Krystalle als identisch zu betrachten sind."

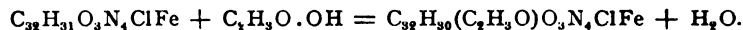
Fig. 21.

Es ist zu bemerken, dass anlässlich der Publication von Prof. Schalfejeff[3]) über die Darstellung des Hämins durch Extraction des defibrinirten Blutes mit Eisessig, die von ihm erhaltenen Krystalle von Prof. Lagorio krystallographisch untersucht und das Resultat der Messungen in dem oben citirten Journal veröffentlicht wurde. Die Angaben von Lagorio beziehen sich also auf das nicht umkrystallisirte Rohacethämin. Wie die Bestimmungen von Dr. Weyberg ergeben, wird das Acethämin beim Umkrystallisiren nach den oben gegebenen Vorschriften krystallographisch nicht verändert. Herr Dr. Zemiatschensky, Professor der Mineralogie an der Petersburger Universität, hatte die Freundlichkeit, auch das Acethämin, das wir aus normaler Buttersäure umkrystallisirten und dessen Elementaranalysen oben mitgetheilt sind, zu untersuchen, und schreibt uns darüber Folgendes:

„Die Krystalle — nach einer Richtung hin ausgezogene Blättchen — sind Combinationen, wie sie Lagorio unter Nr. 2 und 3 abgebildet hat; den Auslöschungswinkel habe ich zwischen 34 bis 30⁰ gefunden, sie sind mit den von Lagorio abgebildeten identisch."

Wie die empirische Formel zeigt, unterscheidet sich das Acethämin in seiner Zusammensetzung von dem Hämin von Nencki und Sieber nur durch die Acetyl-

[1]) Journal der russ. phys.-chem. Gesellsch. **17**, 36 (1885). Russisch.
[2]) Siehe die Figur.
[3]) Journ. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. **17**, 30; vergl. auch Ber. **18**, 232. Ref.

gruppe und man könnte denken, dass es daraus durch Einwirkung von Eisessig entstanden und einfach der Acetylester des Hämins ist.

$$C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe + C_2H_3O.OH = C_{32}H_{30}(C_2H_3O)O_3N_4ClFe + H_2O.$$

Weiter unten anzuführende Gründe sprechen gegen diese Annahme. Wir haben zwar aus dem nicht umkrystallisirten Rohacethämin beim Zersetzen mit Alkali mit Sicherheit Essigsäure erhalten. 10 g der über SO_4H_2 und NaOH im Vacuum bis zu constantem Gewichte getrockneten Krystalle wurden mit 6 proc. Kalilauge zwei Stunden lang am Rückflusskühler zum Kochen erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das Hämatin durch überschüssige verdünnte SO_4H_2 gefällt und das Filtrat sammt Waschwasser der Destillation unterworfen. Das zu Anfang übergegangene Destillat gab mit Eisenchlorid eine rothbraune Färbung und beim Erwärmen einer Probe des Destillates mit Aethylalkohol und SO_4H_2 trat der Geruch nach Essigäther sehr deutlich auf und als das Destillat mit Alkali neutralisirt, zur Trockne verdampft und der Rückstand mit arseniger Säure erhitzt wurde, roch die Schmelze stark nach Kakodyl.

Als wir den Versuch mit 5 g des umkrystallisirten Acethämins wiederholten und das Destillat zur Entfernung der mit übergegangenen Salzsäure mit Bleioxyd eingedampft, den Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit SO_4H_2 erhitzt hatten, war der Geruch nach Essigäther nicht deutlich wahrnehmbar; auch die Kakodylprobe mit einem anderen Theil des Destillates fiel negativ aus. Allerdings waren hier im günstigsten Falle im Gesammtdestillate nur etwa 0.45 g Essigsäure zu erwarten und das ist vielleicht die Ursache, dass in diesem Versuche die Essigsäure nicht bestimmt nachgewiesen werden konnte.

Den verschiedenen Lösungsmitteln gegenüber verhält sich das Rohacethämin wie das umkrystallisirte durchaus gleich. In verdünnten Alkalien, Ammoniak, Lösungen organischer Basen sind sie leicht löslich. Wird Acethämin mit unzureichender Menge verdünntem (etwa 1 pro mille) Ammoniak versetzt, so dass ein Theil der Krystalle ungelöst bleibt, so können aus der ammoniakalischen Lösung nach Zusatz von Alkohol in den früher angegebenen Verhältnissen und Eintragen in heissen, kochsalzhaltigen Eisessig die Krystalle des Acethämins daraus erhalten werden. In verdünnten organischen und Mineralsäuren ist das Acethämin völlig unlöslich, ebenso in Chloroform, Aceton und Aether. Diese Lösungsmittel werden in der Kälte davon gar nicht angefärbt. Etwas löslich ist es in Alkohol, namentlich in 70- bis 80 proc. In Capillarröhrchen erhitzt, sintert es gegen 240° und schmilzt selbst bei 300° nicht.

Acethämin im Zeisel'schen Apparate mit JH auf 140° erhitzt, gab in der Silberlösung gar keine Trübung. Um zu sehen, ob etwa darin Alkylradicale an Stickstoff gebunden sind, erhitzten wir das umkrystallisirte Acethämin mit JH in dem Apparate von Herzig und Meyer[1]) auf 270 bis 290°. Es wurde zuerst, um die Reagentien auf ihre Reinheit zu prüfen, ein blinder Versuch gemacht. Statt die beiden Kölbchen im Sandbade zu erhitzen, wurden sie in Asbestpappe eingewickelt und dann erhitzt; auch haben wir es zweckmässig gefunden, den Hals der beiden

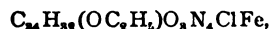
[1]) Wiener Monatshefte **15**, 613.

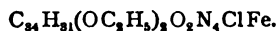
Kölbchen etwas länger zu machen, um die Korke vor der Hitze zu schützen. Nachdem der Apparat zusammengestellt worden, beschickten wir ihn mit 20 ccm JH und 8 g Jodammonium. Wir erhitzten die Kölbchen bis auf 290°. Die Temperatur im Kühler und in dem mit rothem Phosphor beschickten Kugelapparat wurde constant auf 60° erhalten. In der Silberlösung entstand Anfangs ein minimaler schwarzer Niederschlag, der bei weiterem Erhitzen sich nicht vermehrte. Wir unterbrachen jetzt das Erhitzen und nach völligem Erkalten beschickten wir den Apparat mit noch 15 ccm JH und setzten 0.6549 g des umkrystallisirten Acethämins hinzu. Während zweistündigem Erhitzen auf 280 bis 290° bildete sich an dem Zuleitungsröhrchen in der Silberlösung ein unwägbarer brauner Beschlag. Die Silberlösung selbst zeigte nur eine schwache Opalescenz. Wir ziehen daraus den Schluss, das im Acethämin weder mit dem Hydroxylsauerstoff, noch mit dem Stickstoff ein Alkyl verbunden ist.

Den entscheidenden Beweis, dass im Acethämin das Acetyl nicht einen Hydroxylwasserstoff ersetzt, finden wir aber darin, dass das Acethämin gleich wie das Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ zwei freie Hydroxyle enthält. Durch Einwirkung von Salzsäure auf eine methylalkoholische Lösung des Hämins erhielten wir das Dimethylhämin:

$$C_{32}H_{29}(OCH_3)_2ON_4ClFe.$$

Andererseits erhielten wir aus dem Acethämin bei entsprechender Behandlung einer äthylalkoholischen Lösung nicht allein den Monoäthyläther des Acethämins:

$$C_{34}H_{32}(OC_2H_5)O_3N_4ClFe,$$

sondern auch den Diäthyläther:

$$C_{34}H_{31}(OC_2H_5)_2O_2N_4ClFe.$$

Bevor wir jedoch zur Beschreibung dieser Aethers übergehen, wollen wir mit wenigen Worten die Natur der von Schalfejeff als „carcasse" bezeichneten Substanz aufklären.

Oben wurde mitgetheilt, dass beim Auflösen des Rohacethämins in chininhaltigem Chloroform etwa 6 Proc. als wenig gefärbter Rückstand — die „carcasse" — hinterblieben. Unter dem Mikroskope besteht dieser Rückstand aus Krystallfragmenten und amorphen, theils gefärbten, theils ungefärbten Partikeln. Wir haben ihn beim Umkrystallisiren des Acethämins in grösseren Mengen gesammelt, mit Chloroform nachgewaschen und in vacuo über SO_4H_2 getrocknet. Die trockene Substanz, auf Platinblech erhitzt, verbreitete den Geruch nach verbranntem Horn und hinterliess etwas Asche, aus Eisenoxyd bestehend. Als die Substanz mit metallischem Natrium geglüht und die rückständige Kohle mit etwas Wasser aufgenommen wurde, gab die davon abfiltrirte Lösung mit Nitroprussidnatrium eine stark violette Färbung, ein Zeichen, dass die „carcasse" auch Schwefel enthält. Eine von Herrn Różycki ausgeführte Elementaranalyse der „carcasse" ergab ihm folgende Zahlen:

0.1986 g gaben 0.1120 g H_2O und 0.3936 g CO_2 = 6.26 Proc. H und 54.02 Proc. C.
0.2096 g gaben 23.0 N-Gas bei 16.8° T. und 751 mm Bst. = 12.83 Proc. N.
0.4682 g gaben 0.0580 g AgCl und 0.0366 g Fe_2O_3 = 3.05 Proc. Cl und 5.47 Proc. Fe.

Es ergiebt sich hieraus, dass die „carcasse" ein Gemisch von etwas ungelöstem Hämin, amorphem Hämoglobin und geronnenem Eiweiss ist.

Der Dimethyläther des Hämins.

An die Möglichkeit der Aetherbildung aus Hämin haben wir schon anlässlich der Arbeit des Herrn Białobrzeski gedacht, als wir sahen, dass bei längerem Kochen der salzsäurehaltigen amylalkoholischen Lösung das abgeschiedene Hämin in verdünnten wässerigen Alkalien unlöslich wurde und auch der Procentgehalt des erhaltenen Productes an Kohlenstoff und Wasserstoff erheblich zunahm, während der Gehalt an Stickstoff, Eisen und Chlor entsprechend abnahm. In dieser Vermuthung wurden wir noch bestärkt, als wir nach der Vorschrift von Schalfejeff[1]) zum warmen, chlorwasserstoffhaltigen Aethylalkohol die chininhaltige Chloroformlösung des Hämins zugesetzt hatten. Die abgeschiedenen Krystalle waren verschieden von den triklinischen Formen, die wir ausschliesslich erhielten, als wir die gleiche Chloroformlösung mit heissem Eisessig vermischten. Sie bestanden grösstentheils aus spindel- und wetzsteinartigen Formen, wie sie öfters die Harnsäure zeigt, daneben waren gut ausgebildete, sechsseitige Tafeln und auch die charakteristischen Krystalle des Acethämins vorhanden. Es wurde uns klar, dass beim Vermischen mit salzsäurehaltigem Aethylalkohol ein Gemenge verschiedener Körper sich bildet. Da im Allgemeinen Methylalkohol besser als Aethylalkohol zur Aetherification sich eignet, so hat auf unseren Vorschlag Herr L. Różycki[2]) die Darstellung des Methyläthers des Hämins ausgeführt.

Rohacethämin aus Pferdeblut wurde in chininhaltigem Chloroform in der Wärme gelöst und in kleinen Portionen auf je 10 ccm der filtrirten Lösung 50 ccm reiner mit HCl gesättigter Methylalkohol zugesetzt. Beim langsamen Erkalten bildeten sich darin wetzsteinförmige, zu Rosetten gruppirte Krystalle, die nach dreitägigem Stehen abfiltrirt und Anfangs mit Aethylalkohol, hernach mit Aether gewaschen wurden. Die in vacuo bis zu constantem Gewichte getrockneten Krystalle ergaben bei den Elementaranalysen folgende Zahlen:

0.1795 g gaben 0.4210 g CO_2 und 0.0942 g H_2O = 63.95 Proc. C und 5.79 Proc. H.
0.2171 g gaben 16.1 ccm N-Gas bei 17.6° T. und 756 mm Bst. = 8.53 Proc. N.
0.2196 g gaben 0.0448 g AgCl und 0.0269 g Fe_2O_3 = 5.04 Proc. Cl und 8.57 Proc. Fe.
0.2160 g gaben 0.5058 g CO_2 und 0.1080 g H_2O = 63.86 Proc. C und 5.55 Proc. H.
0.1550 g gaben 11.5 ccm N-Gas bei 16° T. und 764 mm Bst. = 8.72 Proc. N.
0.2753 g gaben 0.0604 g AgCl und 0.0345 g Fe_2O_3 = 5.42 Proc. Cl und 8.77 Proc. Fe.

Drei Methoxylbestimmungen in diesem Präparate, wobei die Substanz mit Jodwasserstoff[3]) auf 140° erhitzt wurde, ergaben als Methylzahl: 4.26 Proc., 4.12 Proc. und 4.13 Proc. CH_3.

Dieses Präparat war in wässerigem Ammoniak oder Natronlauge völlig unlöslich und erst beim Kochen damit ging es allmählich in Lösung über. Im Capillarrohr erhitzt, war die Substanz selbst über 300° nicht geschmolzen. Aus den übereinstimmenden Elementaranalysen und den Methoxylbestimmungen geht mit Sicherheit

[1]) Le physiologiste russe. 1, 16.

[2]) Entsprechende Versuche sind als Inaug.-Diss. Petersburg erschienen (1899).

[3]) Jodwasserstoff vom spec. Gew. ca. 1.7 speciell für „Methoxylbestimmung" ist bei Kahlbaum in Berlin käuflich zu haben.

hervor, dass im Hämin zwei durch Methyl ersetzbare Hydroxylwasserstoffe vorhanden sind. Das Resultat der Analysen war insofern für uns überraschend, als wir eigentlich den Methyläther des Acethämins erwartet haben. Die Zusammenstellung der analytischen Resultate spricht aber mehr zu Gunsten der Formel $C_{32}H_{29}(OCH_3)_2ON_4ClFe$.

Berechnet für: $C_{32}H_{29}(OCH_3)_2ON_4ClFe$		Berechnet für: $C_{34}H_{31}(OCH_3)_2O_2N_4ClFe$		Gefunden:		
C	63.90 Proc.	C	63.48 Proc.	C	63.95 Proc.	und 63.86 Proc.
H	5.48 „	H	5.43 „	H	5.79 „	„ 5.55 „
N	8.77 „	N	8.22 „	N	8.53 „	„ 8.72 „
Cl	5.56 „	Cl	5.21 „	Cl	5.04 „	„ 5.42 „
Fe	8.77 „	Fe	8.22 „	Fe	8.57 „	„ 8.77 „

Im Dimethylhämin ist der Methylgehalt 4.69 Proc. CH_3. Dimethylacethämin enthält 4.40 Proc. CH_3. Durch vergleichende Versuche haben wir constatirt, dass, wenn die methylalkoholische Lösung weniger als 1.5 Proc. HCl enthält und kürzer als fünf Minuten erwärmt wird, dann ein Theil der beim Abkühlen sich ausscheidenden Krystalle in verdünnten Alkalien löslich ist. Beim längeren Erwärmen wird das Präparat zwar in Alkalien unlöslich, dafür wird aber der Kohlenstoff- und auch der Stickstoffgehalt merklich herabgesetzt und auch die Methylzahl ist vermindert. So wurden 10 g Acethämin in 800 ccm Methylalkohol mit 10 g Chinin gelöst, die filtrirte Lösung mit 70 ccm HCl-haltigem Methylalkohol versetzt und zwar in dem Verhältniss, dass die Lösung 1.5 Proc. freie HCl enthielt, und 10 Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erwärmt. Die beim Erkalten abgeschiedenen und abfiltrirten Krystalle wurden mit stufenweise verdünntem Methylalkohol, schliesslich mit salzsäurehaltigem Wasser gewaschen und Anfangs auf Fliesspapier, sodann im Vacuum über SO_4H_2 und NaOH getrocknet. Die Krystalle waren in verdünnten Alkalien in der Kälte völlig unlöslich und ergaben bei den Analysen: C 62.76 Proc. und 63.06 Proc.; H 5.63 Proc. und 5.78 Proc.; N 8.13 Proc. und 8.32 Proc.; Cl 5.69 Proc. und 5.71 Proc.; Fe 8.61 Proc. und 8.71 Proc., und 3.93 Proc. CH_3.

In einem zweiten Versuche wurden 5 g nach dem Verfahren von Nencki und Sieber aus dem Amylalkohol erhaltenen Hämins in 400 g absolutem Methylalkohol mit 5 g Chinin gelöst und 300 ccm der Lösung mit 20 ccm mit HCl gesättigtem Methylalkohol 15 Minuten lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade gekocht. Die wie oben erhaltenen und gewaschenen Krystalle waren in wässerigen Alkalien völlig unlöslich. Bei den Elementaranalysen wurden folgende Zahlen erhalten: C 63.2 Proc.; H 5.49 Proc.; N 8.57 Proc.; Fe 8.59 Proc.; Cl 5.27 Proc. und 3.54 Proc. CH_3.

Da der Monoäthyläther des Acethämins in Alkalien leicht löslich ist und die beiden letzten Präparate darin völlig unlöslich waren, so konnte hier nicht ein Gemenge von Mono- und Dimethylhämin vorliegen. Vielmehr ist anzunehmen, dass nur der Dimethyläther vorlag, der aber zum geringen Theil durch zersetztes Hämin, in Folge des Kochens mit Salzsäure, verunreinigt war. Bei der mikroskopischen Betrachtung von Häminen, die länger mit salzsäurehaltigem Methylalkohol erwärmt wurden, sahen wir ausser der sternartig gruppirten Spindel auch kleine, dunkle Kugeln, an denen keine Krystallform mehr zu erkennen war.

Da, wie wir gleich sehen werden, das β-Hämin von Mörner der Monoäthyläther des Acethämins ist, so versuchten wir nach Mörner's Verfahren aus den rothen Blutkörperchen vom Rind mittelst Methylalkohol den Monomethyläther darzustellen. Der Versuch fiel insofern ungünstig aus, als die Blutkörperchen, mit Methylalkohol gefällt, nach erfolgter Gerinnung vom Methylalkohol abgepresst, im feuchten Zustande eine plastische Masse bilden, die, mit salzsäurehaltigem Methylalkohol erwärmt, nur wenig sehr kleine Krystalle gaben, die überdies durch Acidalbumin und Fett stark verunreinigt waren. Durch Kochsalzzusatz zu der Masse wurden zwar weniger verunreinigte, aber doch zur Analyse nicht geeignete Krystalle erhalten. Wurde der Blutkuchen an der Luft getrocknet und die fein gepulverte Masse mit salzsäurehaltigem Methylalkohol extrahirt, so ging nur wenig Farbstoff in Lösung und die Ausbeute an Krystallen war sehr gering.

Die Aethyläther des Acethämins.

Wird Acethämin in chininhaltigem Chloroform gelöst und die filtrirte Lösung nach der Vorschrift von Schalfejeff mit warmem, salzsäurehaltigem Aethylalkohol vermischt, so erhält man nach dem Erkalten neben den charakteristischen Formen des Acethämins auch spindelförmige, meistens sternförmig gruppirte Krystalle. In der üblichen Weise gereinigt und getrocknet, spalten diese Krystalle, mit verdünnter Natronlauge destillirt, Aethylalkohol ab, welcher in den ersten Destillaten durch die Jodoform- oder die Aldehydreaction leicht nachgewiesen werden kann. Es entsteht also nach diesem Verfahren ein Gemisch von unverändertem Acethämin, seinem Aethyläther und wahrscheinlich auch Alkoholadditionsproducte. Wird die salzsäurehaltige, äthylalkoholische Lösung auf dem Wasserbade länger erwärmt, so wird ein Theil der erhaltenen Krystalle in verdünntem Ammoniak unlöslich, indem, wie weiter unten gezeigt wird, der Diäthyläther des Acethämins sich bildet.

Das beste Verfahren zur Darstellung des Monoäthyläthers des Acethämins ist das von Mörner für das β-Hämin angegebene, denn nach unserer Ansicht ist das β-Hämin nichts Anderes als Monoäthylacethämin. Zu seiner Darstellung hat Mörner defibrinirtes Blut mit einigen Volumen Wasser verdünnt und nach Zusatz der eben nöthigen Menge Schwefelsäure durch Kochen coagulirt. Der Niederschlag wurde mit Wasser gut gewaschen und ausgepresst, dann mit Weingeist zerrieben und wieder ausgepresst. Er wurde darauf in Weingeist von 90 bis 93 Proc. eingetragen (auf je 1 Liter verwendetes Blut etwa 1.5 Liter Weingeist), welcher mit 0.5 bis 1 Volumprocent concentrirter Schwefelsäure versetzt worden war. Unter häufigem Umrühren wurde das Pulver einige Stunden bei Zimmertemperatur mit dem sauren Weingeist in Berührung gelassen, wobei der Farbstoff fast vollständig ausgezogen wurde. Die ausgepresste und filtrirte weingeistige Lösung wird dann bis zu beginnendem Sieden erhitzt und mit erwärmter Salzsäure (auf je ein Liter der Lösung 10 ccm Salzsäure, welche mit Weingeist verdünnt wurde) versetzt und dann in der Kälte stehen gelassen. Die nach einem oder nach ein paar Tagen abgeschiedenen Krystalle wurden mit Weingeist, dann mit Wasser gewaschen, darauf in gelinder Wärme getrocknet und mit Petroläther und Aether erschöpft. In sechs Präparaten ver-

schiedener Darstellung aus Hunde- und Rinderblut, denen noch zwei in der zweiten Abhandlung[1]) mitgetheilte hinzuzufügen wären, erhielt Mörner gut unter einander übereinstimmende Zahlen, aus welchen er die Formel $C_{35}H_{35}O_4N_4ClFe$ berechnet. Der empirischen Zusammensetzung nach wäre dieses β-Hämin ein Homologes des Hämins von Nencki und Sieber, und zwar ein Propionylhämin $= C_{32}H_{30}(C_3H_5O)O_3N_4ClFe$.

A priori ist es ja nicht ausgeschlossen, dass aus dem Hämoglobin ebensogut wie Acethylhämin auch Propionylhämin abgespalten werden kann. Uns ist es deshalb wahrscheinlicher, dass das β-Hämin der Monoäthyläther des Acethämins ist, weil Mörner selbst durch Destillation mit Natronlauge daraus Aethylalkohol abgespalten hat. Monoäthylacethämin $= C_{36}H_{37}O_4N_4ClFe$ kann bei der Verseifung höchstens 6.7 Proc. Aethylalkohol geben; zudem wissen wir vorläufig nicht, inwiefern durch Kochen mit Alkalien das Aethyl vollständig abgespalten wird. Wir wissen andererseits, mit welch' ausserordentlicher Leichtigkeit Hämin mit Alkoholen selbst durch 2- bis 3 proc. Mineralsäuren ätherificirt wird. Die von Mörner erhaltenen Zahlen stimmen ebenso gut mit der Formel des Monoäthylacethämins wie mit der Formel des Propionylhämins überein.

Mörner fand im Mittel:		Propionylhämin $C_{35}H_{35}O_4N_4ClFe$ verlangt:		Monoäthylacethämin $C_{36}H_{37}O_4N_4ClFe$ verlangt:	
C	63.26 Proc.	C	63.03 Proc.	C	63.49 Proc.
H	5.24 „	H	5.25 „	H	5.44 „
N	8.31 „	N	8.40 „	N	8.23 „
Fe	8.36 „	Fe	8.40 „	Fe	8.23 „
Cl	5.20 „	Cl	5.30 „	Cl	5.21 „

Dass das β-Hämin in Alkalien leicht löslich ist, erklärt sich aus dem Umstande, dass im Monoäthyläther noch ein Hydroxyl frei ist. Mörner hat auch den in Alkalien unlöslichen Diäthyläther des Acethämins, wenn auch in weniger reinem Zustande, dargestellt. Er betont ausdrücklich, dass zur Darstellung des β-Hämins das Blutpulver bei Zimmertemperatur mit dem sauren Weingeist digerirt werden muss. Bei längerem Erwärmen der sauren Lösung wurden nicht Nadeln und Blättchen des β-Hämins, sondern fast durchgehend würfelförmige, weniger gut entwickelte Krystalle erhalten. Die Ecken derselben sind mitunter abgerundet, so dass sie fast kugelförmig aussehen. Diese Krystalle sind nicht braunviolett, sondern schwarz und in Alkalien unlöslich — „auch nach längerem Erwärmen wurde das Ammoniak nicht einmal gefärbt“[2]). — Wir können aus eigenen Erfahrungen in allen Stücken die Angaben dieses exacten Forschers bestätigen. Eine gute Abbildung dieser kugel- und würfelförmigen Krystalle, mit Spindeln und Blättchen vermengt, hat Cloetta[3]), dessen „nicht umkrystallisirtes salzsaures Hämin“ jedenfalls zum grossen Theil aus einem Gemische des Mono- und Diäthyläthers bestand, gegeben. Elementaranalysen dieser in Alkalien unlöslichen Krystalle ergaben nach Mörner für drei verschiedene Präparate folgende Zahlen:

---

[1]) l. c. Festband Nr. 26, S. 5 und 8.

[2]) Mörner l. c. S. 13.

[3]) Cloetta l. c. S. 352.

Der Kohlenstoff gleich resp. 63.96 Proc. — 64.77 Proc. — 64.30 Proc.; der Wasserstoff gleich 6.00 Proc.; der Stickstoff gleich resp. 7.95 Proc. — 7.70 Proc. — 7.78 Proc.; das Eisen gleich resp. 7.87 Proc. — 7.85 Proc. — 7.97 Proc.; das Chlor gleich resp. 5.46 Proc., 4.99 Proc. — 5.21 Proc. Die Formel $C_{34}H_{31}(C_2H_5)_2O_4N_4ClFe$ Aeq. 708.5 verlangt: C 64.36 Proc., H 5.78 Proc.; N und Fe 7.90 Proc. und 5.01 Proc. Cl.

Bei unseren vielfach variirten Versuchen, um den Diäthyläther des Acethämins rein zu bekommen, hatten wir mancherlei Schwierigkeiten zu überwinden. Die Bildung des Aethyläthers geht nicht so leicht wie die des Methyläthers vor sich und musste die Salzsäure etwas concentrirter, etwa 3 Proc., angewendet werden. Zur Auflösung des Acethämins ist chininhaltiger, absoluter Alkohol nicht geeignet, da darin die Krystalle nur sehr wenig löslich sind. Am zweckmässigsten fanden wir, die Krystalle in chininhaltigem Chloroform zu lösen und die filtrirte Lösung mit kochendem, salzsäurehaltigem Alkohol zu vermischen. Der Alkohol muss wasserhaltig, etwa 90 Proc., sein, da sonst beim Erkalten wenig oder gar keine Krystalle sich bilden. Verdünnter Alkohol ist zu vermeiden, weil sich dann das Chloroform ausscheiden würde. Wird nach dem Vermischen der beiden Lösungen die Flüssigkeit länger erwärmt, so werden nur sehr kleine, sternförmig gruppirte Nadeln, mit würfel- und kugelförmigen Gebilden vermengt, erhalten. Reiner Diäthyläther ist in wässerigen Alkalien absolut unlöslich und löst sich leicht und ohne jeden Rückstand in Chloroform auf. Wir erzielten die besten Resultate beim Einhalten folgender Verhältnisse:

1. 4 g Acethämin und 6 g Chinin wurden in einem Gemisch von 100 ccm 96 proc. Alkohols und 100 ccm Chloroform in der Kälte gelöst. Andererseits wurden 850 ccm absoluten Alkohols mit 85 ccm wässeriger Salzsäure (spec. Gewicht 1.19) vermischt, auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt und dazu 160 ccm der kalten, filtrirten Häminlösung zugesetzt. Die Flüssigkeit blieb auf dem warmen Wasserbade, bis sie wieder zum Sieden kam, worauf wir sie gleich darauf erkalten liessen. Die nach 24 stündigem Stehen ausgeschiedenen Krystalle bestanden aus sternförmig gruppirten Nadeln und waren in Alkalien völlig unlöslich. Sie wurden mit stufenweise verdünntem Alkohol gewaschen und im Vacuum über SO_4H_2 und NaOH bis zu constantem Gewichte getrocknet.

0.2677 g gaben 0.1360 g H_2O und 0.6300 g CO_2 = 5.65 Proc. H und 64.18 Proc. C.
0.2717 g gaben 18.7 ccm N-Gas bei 21.2° T. und 767 mm Bst. = 7.94 Proc. N.
0.7429 g gaben 0.1593 g AgCl und 0.0863 Fe_2O_3 = 5.30 Proc. Cl. und 8.13 Proc. Fe.
0.3045 g im Zeisel'schen Apparate mit JH erhitzt gaben 0.1774 g AgJ = 7.19 Proc. C_2H_5.

2. 4 g Acethämin und 4 g Chinin wurden in 200 ccm kalten Chloroforms gelöst; andererseits 350 ccm absoluten Alkohols und 35 ccm Salzsäure vom specifischen Gewicht 1.19 zum Kochen erhitzt und nach Zusatz der Chloroformlösung noch fünf Minuten lang im Sieden erhalten. Das Präparat, wie oben getrocknet, krystallisirte in sternförmig gruppirten Nadeln, war absolut unlöslich in Ammoniak, leicht und vollkommen löslich in Chloroform.

0.1914 g gaben 13.2 ccm N-Gas bei 20.7° T. und 763 mm Bst. = 7.93 Proc. N.
0.2507 g gaben 0.1319 g H_2O und 0.5902 g CO_2 = 5.85 Proc. H und 64.21 Proc. C.
0.2111 g im Zeisel'schen Apparate mit JH erhitzt gaben 0.1357 g AgJ = 7.93 Proc. C_2H_5.

Zu weiteren Analysen reichten die erhaltenen Krystalle nicht mehr aus.

3. Auch aus dem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellten Hämin haben wir den Diäthyläther des Hämins erhalten. 4 g dieser Krystalle und 6 g Chinin wurden in einem Gemische von 100 ccm absoluten Alkohols und 100 ccm Chloroform in der Kälte gelöst. 150 ccm der filtrirten Lösung wurden mit 850 ccm absoluten Alkohols, 85 ccm Salzsäure vom specifischen Gewicht 1.19 und 20 ccm Wasser fünf Minuten lang im Sieden erhalten und hierauf erkalten gelassen. Die Krystalle waren nicht so schön und homogen, wie in den beiden vorigen Präparaten; neben den sternförmig gruppirten Nadeln waren auch vereinzelte Würfel vorhanden; in wässerigem Ammoniak waren sie ganz unlöslich, leicht und vollständig löslich in Chloroform.

0.2973 g gaben 0.1586 g H_2O und 0.7011 g CO_2 = 5.93 Proc. H und 64.31 Proc. C.
0.2232 g gaben 15.4 ccm N-Gas bei 18.5° T. und 764 mm Bst. = 8.02 Proc. N.
0.5822 g gaben 0.1173 g AgCl und 0.0680 Fe_2O_3 = 4.98 Proc Cl und 8.18 Proc. Fe.
0.2571 g gaben bei der Aethylbestimmung 0.1731 g AgJ = 8.31 Proc. C_2H_5.

Wir stellen in Folgendem die erhaltenen Zahlen übersichtlich zusammen.

	Es wurden gefunden: 1.	2.	3.	Die Formel $C_{34}H_{31}(C_2H_5)_2O_4N_4ClFe$ verlangt:	
C	64.18 Proc.	64.21 Proc.	64.31 Proc.	C	64.36 Proc.
H	5.65 „	5.85 „	5.93 „	H	5.78 „
N	7.94 „	7.93 „	8.02 „	N	7.90 „
Fe	8.13 „	— „	8.18 „	Fe	7.90 „
Cl	5.30 „	— „	4.98 „	Cl	5.01 „
C_2H_5	7.19 „	7.93 „	8.31 „	$(C_2H_5)_2$	8.28 „

Wir haben absichtlich den modus procedendi bei diesen drei Präparaten detaillirt angegeben, denn jede nur geringe Aenderung in der Concentration der Lösung, Gehalt an Säure, Dauer des Erwärmens, beeinflusst gleich die Reinheit des Präparates. Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich, war das zweite Präparat das reinste, wenn auch hier die Ausbeute nur gering war. Bei einer zweiten Darstellung des Diäthyläthers aus dem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber mittelst Amylalkohol dargestellten Hämin, wo das Erwärmen mit Säure nur wenige Minuten länger dauerte, erhielten wir schon ein anders zusammengesetztes Product. Es wurden in diesem Versuche 3 g Hämin und 4.5 g Chinin in einem Gemische von 75 ccm Alkohol und 75 ccm Chloroform in der Kälte gelöst und 125 ccm des Filtrates mit 700 ccm absolutem Alkohol und 70 ccm Salzsäure (spec. Gewicht 1.19) acht Minuten lang auf dem warmen Wasserbade gehalten. Beim Erkalten wurden nur etwa zur Hälfte sehr kleine zu Rosetten vereinigte Nadeln erhalten, die andere Hälfte bestand aus den würfel- und kugelförmigen Gebilden. Dieses Präparat, wie die vorigen gewaschen und getrocknet, war in Alkalien unlöslich und ergab bei den Analysen folgende Zahlen:

0.2588 g gaben 0.1371 g H_2O und 0.6117 g CO_2 = 5.89 Proc. H und 64.45 Proc. C.
0.2545 g gaben 17.8 ccm N-Gas bei 19.5° T. und 755 mm Bst. = 8.00 Proc. N.
0.2422 g gaben im Zeisel'schen Apparate mit JH erhitzt 0.2105 g AgJ = 10.73 Proc. C_2H_5.

Bei der Darstellung des Diäthyläthers aus dem nach dem Verfahren von Nencki und Sieber bereiteten Hämin konnte man annehmen, dass hier ein Gemenge des

Diäthyläthers des Acethämins und des Hämins von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$, welche verlangt: C 64.81 Proc.; H 5.85 Proc.; N und Fe 8.40 Proc.; 5.32 Proc. Cl und 8.70 Proc. C_2H_5. Auch die oben citirte Analyse Nr. 3 zeigt den höchsten Aethylgehalt. Der Umstand, dass das zuletzt analysirte Präparat etwa zur Hälfte aus den würfel- und kugelförmigen Gebilden bestand und dabei 10.73 Proc. Aethyl enthält, spricht aber dafür, dass hier eine tiefere Veränderung im Molekül stattgefunden hat.

Der Monoamyläther des Acethämins.

Von besonderem Interesse war für uns die Darstellung des Amyläthers des Hämins, da das nach der Vorschrift von Nencki und Sieber bereitete Hämin Amylalkohol enthält. Zunächst haben wir aus dem gewöhnlichen Gährungsamylalkohol, der also vorwiegend aus Isobutylcarbinol besteht, das Jodid dargestellt und uns überzeugt, dass dieses Jodid bei der Destillation mit den Wasserdämpfen sich vollkommen verflüchtigt, dass also bei der Spaltung der Aether mit JH in dem Zeisel'schen Apparate der Amylgehalt bestimmt werden kann. Wir fanden aber in einem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber bereiteten und im Vacuum getrockneten Hämin aus 0.6957 g der Substanz nur 0.0442 g AgJ = 1.92 Proc. C_5H_{11}. Unter der Voraussetzung, dass alles Amyl als Jodid sich verflüchtigte, berechnet sich die Menge des zu erwartenden C_5H_{11} nach der Formel $(C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe)_4C_5H_{12}O$ zu 2.8 Proc. C_5H_{11}.

Wir versuchten sodann auf ähnliche Weise, wie wir den Methyl- und Aethyläther bereitet, auch den Amyläther darzustellen. Hämin, in chininhaltigem Chloroform gelöst, giebt mit auf 100° erwärmtem, salzsäurehaltigem Gährungsamylalkohol beim Erkalten keine Krystalle, offenbar weil der entstandene Aether darin leicht löslich ist. Nach verschiedenen Versuchen sind wir dabei stehen geblieben, Hämin in chininhaltigem Amylalkohol, der 4 bis 5 Proc. Wasser enthält, aufzulösen und die warme, filtrirte Lösung mit Salzsäure zu versetzen. Zur Auflösung sind auf 1 g Hämin etwa 200 ccm solchen Amylalkohols nothwendig. Nach mehrstündigem Stehen und häufigem Umrühren oder noch besser beim Erwärmen auf 40 bis 60° löst sich der grösste Theil der Krystalle darin auf; immerhin bleibt viel mehr ungelöstes Hämin als wie bei der Bereitung des Methyl- oder des Aethyläthers zurück. Von wesentlicher Bedeutung für die Entstehung der Krystalle beim Erkalten ist die Menge der zugesetzten Salzsäure. Wurde zu der filtrirten amylalkoholischen Lösung so viel HCl zugesetzt, dass die Flüssigkeit 2 bis 1 Proc. HCl enthielt, so entstand sofort ein amorpher, schwarzer Niederschlag, der in Chloroform sehr leicht löslich war und welchen wahrscheinlich schon Białobrzeski in den Händen hatte und analysirte[1]. Erst bei einer zehnfach geringeren Menge von Chlorwasserstoff, also wenn die Lösung nur 2 bis 1 pro mille HCl enthielt, haben wir gut ausgebildete Krystalle erhalten. In einem Versuche, wobei wir Acethämin verwendeten und die Lösung 1 pro mille HCl enthielt, war der auskrystallisirte Aether noch mit unverändertem Acethämin vermischt. In einem zweiten Versuche, wo wir vom Hämin nach Nencki und Sieber

[1]) Ber. **29**, 2850.

ausgegangen sind und der Lösung 2 pro mille zusetzten, erhielten wir ein ganz homogenes Präparat. Das Verfahren war folgendes:

1. 5 g Acethämin, 5 g Chinin und 50 ccm Wasser wurden mit 1 Liter Amylalkohol Anfangs bei Zimmertemperatur unter öfterem Umschütteln stehen gelassen und hierauf noch 1 1/2 Stunden auf 50° auf dem Wasserbade erwärmt. Trotzdem blieb viel von den Krystallen ungelöst zurück. 0.5 Liter der filtrirten Lösung wurde nunmehr auf 98° erwärmt, mit 2 ccm Salzsäure, spec. Gewicht 1.24 (0.1 Proc. entsprechend), versetzt und langsam erkalten gelassen. Wir erhielten eine reichliche Krystallisation, hauptsächlich aus wohlausgebildeten, sechsseitigen Tafeln bestehend, daneben waren auch, wenn nur spärlich, Krystalle des unveränderten Acethämins vorhanden. Nach 24 Stunden wurde decantirt, der krystallinische Bodensatz mit 90 proc. Aethylalkohol übergossen, auf ein Filter gebracht, stufenweise mit verdünnterem Alkohol, dann mit Wasser und zum Schluss noch mit 80 proc. Alkohol gewaschen. Der Waschalkohol und das Wasser enthielten 1 pro mille HCl. Die in vacuo getrockneten Krystalle verloren bei 100° 0.3 Proc. an Gewicht. Bei der Elementaranalyse dieses Präparates erhielten wir folgende Zahlen:

0.2283 g nur im vacuo getrocknet gaben 0.1193 g H_2O und 0.5296 g CO_2 = 5.81 Proc. H und 63.27 Proc. C.
0.2390 g gaben 17.4 ccm N-Gas bei 15.6° T. und 752 mm Bst. = 8.44 Proc. N.

Nach dem Trocknen bei 100°:

0.2754 g gaben 0.1373 g H_2O und 0.6404 g CO_2 = 5.54 Proc. H und 63.45 Proc. C.
0.4599 g gaben 0.0973 g AgCl und 0.0538 g Fe_2O_3 = 5.23 Proc. Cl und 8.19 Proc. Fe.
0.2613 g gaben 0.0328 g AgJ = 3.79 Proc. C_5H_{11}.

2. 10 g Hämin, nach dem Verfahren von Nencki und Sieber dargestellt, 15 g Chinin, 80 ccm Wasser und 2 Liter Amylalkohol wurden eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Ein Liter der filtrirten Lösung wurde sodann auf 98° erhitzt und mit 8 ccm Salzsäure (spec. Gewicht 1.174) versetzt (Säuregehalt der Lösung = 0.2 Proc.). Beim Erkalten schieden sich ganz feine spindelförmige Nadeln ab, frei von jeder anderen Krystallform. Das Präparat, wie das vorige gewaschen und nur im Vacuum getrocknet, ergab bei den Analysen folgende Zahlen:

0.2887 g gaben 0.1631 g H_2O und 0.6875 g CO_2 = 6.26 Proc. H und 64.74 Proc. C.
0.2857 g gaben 0.1567 g H_2O und 0.6779 g CO_2 = 6.09 Proc. H und 64.71 Proc. C.
0.2484 g gaben 16.3 ccm N-Gas bei 18.1° T. und 762 mm Bst. = 7.63 Proc. N.
0.2169 g gaben 15.0 ccm N-Gas bei 17.1° T. und 760 mm Bst. = 7.95 Proc. N.
0.5524 g gaben 0.1069 g AgCl und 0.0628 g Fe_2O_3 = 4.79 Proc. Cl und 7.96 Proc. Fe.
0.6049 g gaben 0.1176 g AgCl und 0.0689 g Fe_2O_3 = 4.81 Proc. Cl und 7.98 Proc. Fe.
0.3457 g gaben 0.1026 g AgJ = 8.97 Proc. C_5H_{11}.
0.2132 g gaben 0.0589 g AgJ = 8.35 Proc. C_5H_{11}.

Dieser Aether war wie die anderen Häminäther in Chloroform leicht löslich, weniger in Methyl-, Aethyl- und Amylalkohol. In wässerigem Ammoniak ist er nur sehr wenig löslich. Im Capillarröhrchen über 350° erhitzt, schmilzt er nicht. Sein Spectrum und die Krystallform wird auf den beigegebenen Tafeln abgebildet. Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich, entspricht seine Zusammensetzung scharf der Formel eines Monoamyläthers des Acethämins. Vergleichshalber geben wir noch die procentische Zusammensetzung eines Monoamyläthers des Hämins.

Berechnet für $C_{32}H_{30}(C_5H_{11})N_4FeO_3Cl$:		Berechnet für $C_{34}H_{32}(C_5H_{11})N_4FeO_4Cl$:		Gefunden:		
C	65.24 Proc.	C	64.77 Proc.	C	64.74	und 64.71 Proc.
H	6.02 „	H	5.95 „	H	6.26 „	6.09 „
N	8.22 „	N	7.75 „	N	7.63 „	7.95 „
Fe	8.22 „	Fe	7.75 „	Fe	7.96 „	7.98 „
Cl	5.21 „	Cl	4.91 „	Cl	4.79 „	4.81 „
C_5H_{11}	10.43 „	C_5H_{11}	9.82 „	C_5H_{11}	8.97 „	8.35 „

Oben wurde erwähnt, dass nach Zusatz von 1 pro mille HCl zu der warmen, amylalkoholischen Lösung des Acethämins ausser dem unveränderten Acethämin noch grössere, sechsseitige Tafeln erhalten wurden. Die gleichen tafelförmigen Krystalle, nur etwas kleiner, erhielten wir auch in wechselnder Menge bei der Darstellung der Aether aus Methyl- und Aethylalkohol. Sie sind in Alkalien leicht löslich und gaben bei der Alkylbestimmung meistens nur 10 bis 30 Proc. der theoretisch erwarteten Menge. Vollkommen homogen konnten wir sie nie erhalten. Meistens waren sie vermengt mit kleineren wetzstein- und spindelartigen Formen, die, wie die krystallographische Bestimmung zeigte, dem gleichen System angehören. Da das Hämin durch die Eigenschaft, mit allen möglichen Substanzen zu krystallisiren, ausgezeichnet ist, so ist es uns am wahrscheinlichsten, dass diese relativ grossen, sechsseitigen Tafeln Additionsproducte in wechselnden Verhältnissen von den respectiven Alkoholen, in welchen das Hämin gelöst war, sind, ähnlich dem Hämin von Nencki und Sieber.

Herr Professor P. Zemiatschensky hatte die Güte, die Krystalle zu untersuchen, und uns darüber Folgendes mitgetheilt:

„Sechsseitige, nach einer Richtung hin ausgezogene Tafeln; die grössten 0.4 mm lang und 0.1 mm breit. Einige Exemplare zeigen Spalten, durch Bildung von Subindividuen (s. Fig. 22, *b*), weshalb der Neigungswinkel zweier benachbarter Linien veränderliche Grösse hat. Einzelne Krystalle zeigen mehr regelmässige Form, so dass an ihnen der Winkel (s. Fig. 22, *a*) gemessen werden konnte; im Mittel beträgt er 93° 20′. Die Krystalle bilden öfters Durchkreuzungszwillinge. In gewöhnlichem Lichte sind die Krystalle kaum gefärbt; in parallel polarisirtem Lichte zeigen sie, wenn die Längsaxe mit dem Hauptabschnitte des Polarisators zusammenfällt, fast völlige Absorption. Bei gekreuzten Nicols bewirken sie gerade Auslöschung. Charakter der Doppelbrechung negativ. Nach alledem gehören die Krystalle dem rhombischen System an.“

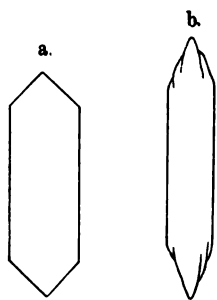
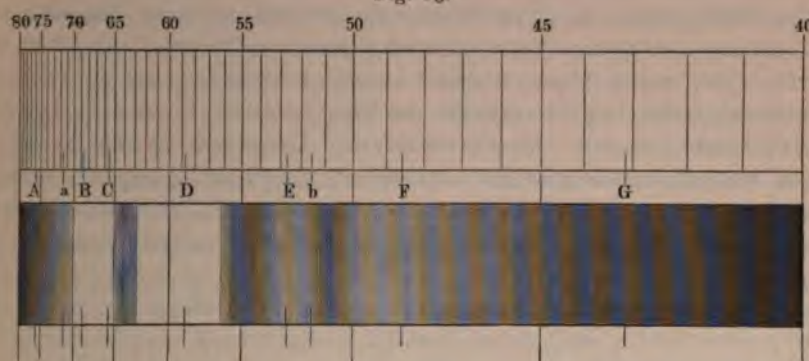



Fig. 22.

Bezüglich der Krystallform der drei von uns dargestellten Aether, nämlich des Dimethylhämins, des Diäthyl- und des Monoamylacethämins, theilte uns Herr Dr. Weyberg in Warschau mit, dass sie alle dem rhombischen System angehören. Es sind dünne, meistens zu Rosetten vereinigte Nadeln oder an den Enden abgerundete Blättchen. Alle drei Aether zeigen gerade Auslöschung und der Charakter der Doppelbrechung ist negativ. Wegen der Kleinheit der Krystalle war ihre genauere krystallographische Bestimmung nicht möglich (siehe die photogr. Tafel). Auf der

beiliegenden Tafel ist das Spectrum des Acethämins und der Aether abgebildet. Die Aether waren in Chloroform gelöst; da das Acethämin in Chloroform unlöslich ist, so wurde es in Aethylalkohol gelöst und die Lösung mit dem gleichen Volumen Chloroform verdünnt. Die Spectra aller von uns analysirten Aether und des Hämins

Fig. 23.

aus Aceton waren mit dem Spectrum des Acethämins identisch. Die Lösungen, passend verdünnt, zeigen drei Absorptionsstreifen, deren respective Wellenlänge wir zu $\lambda = 647$ bis 630; $\lambda = 561$ bis 538 und $\lambda = 518$ bis 500 bestimmt haben.

Das Hämin aus Aceton und aus Essigäther.

Aus dem bisher Mitgetheilten geht hervor, dass nach der von Schalfejeff verbesserten Methode Teichmann's durch Extraction des Blutes mit Eisessig nicht ein Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$, sondern ein um die Acetylgruppe reicheres Hämin von der Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ erhalten wird. Dieses Hämin enthält zwei Hydroxylgruppen, was durch den von uns dargestellten Diäthyläther und den Monoamyläther bewiesen ist. . Da ferner aus dem nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellten Hämin der Monoamyläther des Acethämins erhalten wurde, so spricht dieser Befund dafür, dass in dem mittelst Amylalkohol und Salzsäure dargestellten Präparate das Acethämin vielleicht im Gemisch mit dem Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ enthalten sein muss. Ueberhaupt spricht die Gesammtheit der jetzt erhaltenen Resultate mehr dafür, dass dem durch Abspaltung aus dem Hämoglobin entstandenen Hämin die Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ zukommt. Man könnte denken, dass je nach der Thierspecies aus der einen Hämoglobinart das Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ oder das Acethämin oder auch das Propionylhämin von Mörner erhalten werde. Dagegen sprechen alle directen Beobachtungen. Mörner erhielt nach seinem Verfahren aus Hunde- oder Rinderblut stets dasselbe Hämin. Wir haben aus Pferde-, Rinder-, Hunde-, Katzen- und auch Gänseblut durch Extraction mit Eisessig immer die gleichen triklinischen Blättchen erhalten. Aus diesen Krystallen der Hämoglobine verschiedener Thiere wurden durch entsprechende Behandlung mit den respectiven Alkoholen und Salzsäure die rhombischen Nadeln und abgerundeten Blättchen der respectiven Aether erhalten, die nicht mehr

in die triklinischen Blättchen des Acethämins verwandelt werden konnten. Ebenso wurden aus den Hämoglobinen der genannten Thiere durch Extraction mit Salzsäure und Aceton die weiter unten zu beschreibenden charakteristischen haarförmigen Krystalle erhalten.

Andererseits müssen wir hervorheben, dass unter gewissen, uns nicht näher bekannten Bedingungen, auch mit Eisessig aus dem Rinder- oder Pferdeblute ein Hämin erhalten wird, dessen Zusammensetzung besser der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ entspricht. Oben wurde mitgetheilt, dass aus den triklinischen nach Schalfejeff dargestellten Krystallen der Dimethyläther des Hämins von der Formel $C_{32}H_{29}(CH_3)_2O_3N_4ClFe$ erhalten wurde. Als Herr Różycki das mittelst Eisessig dargestellte Hämin in alkoholischem Ammoniak auflöste, die alkalische Lösung mit kochsalzhaltigem Eisessig in der Wärme vermischte und diese Operation noch einmal wiederholte, erhielt er in diesem Falle für das in vacuo getrocknete Präparat folgende Zahlen:

0.2077 g gaben 0.4772 g CO_2 und 0.1042 g H_2O = 62.66 Proc. C und 5.53 Proc. H.
0.2620 g gaben 20.4 ccm N-Gas bei 18.9° T. und 743 mm Bst. = 8.95 Proc. N.
0.2699 g gaben 0.0612 g AgCl = 5.60 Proc. Cl.
0.3036 g gaben 0.0405 g Fe_2O_3 = 9.33 Proc. Fe.
0.1946 g gaben 15.2 ccm N-Gas bei 19.4° T. und 716.5 mm Bst. = 8.87 Proc. N.
0.2036 g gaben 0.0260 g Fe_2O_3 = 8.93 Proc. Fe.
0.2163 g gaben 0.0498 g AgCl = 5.68 Proc. Cl.

Berechnet für $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$:		Berechnet für $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$:		Gefunden:	
C	62.55 Proc.	C	62.88 Proc.	C	62.66 Proc.
H	5.06 „	H	5.08 „	H	5.53 „
N	8.58 „	N	9.17 „	N	8.95 und 8.87 Proc.
Fe	8.58 „	Fe	9.17 „	Fe	9.33 und 8.93 „
Cl	5.44 „	Cl	5.81 „	Cl	5.60 und 5.68 „

Wir haben reines analysirtes Acethämin noch zweimal auf gleiche Weise umkrystallisirt. Das umkrystallisirte Präparat ergab folgende Zahlen:

0.2498 g gaben 0.5718 g CO_2 und 0.1162 g H_2O = 62.41 Proc. C und 5.17 Proc. H.
0.2577 g gaben 19.6 ccm N-Gas bei 24.2° T. und 756 mm Bst. = 8.53 Proc. N.
0.5465 g gaben 0.1254 g AgCl und 0.0678 g Fe_2O_3 = 5.67 Proc. Cl und 8.68 Proc. Fe.

also Zahlen, welche genau mit der Formel $C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe$ übereinstimmen. Bei der ausserordentlichen Reactionsfähigkeit und Veränderlichkeit des farbigen Bestandtheils des Hämoglobins müssen feine, bis jetzt uns unbekannte Momente bestimmend sein, von welchen die Zusammensetzung des abgespaltenen Hämins abhängig ist.

Da bei der Extraction der Hämoglobine mit Alkoholen und Mineralsäuren stets Alkyläther oder Alkoholadditionsproducte sich bilden, so war es wünschenswerth, zu erfahren, was für Hämin entstehen wird, wenn statt eines Alkohols eine mehr indifferente Substanz zur Darstellung dieses Farbstoffes angewendet wird. Wir wählten zu diesem Zwecke das Aceton. Wir verwendeten Anfangs für die orientirenden Versuche reines Aceton aus der Bisulfitverbindung. Später, als sich herausstellte, dass auch aus dem Aceton von Kahlbaum, Sdp. 56 bis 57°, dasselbe Product erhalten wird, verwendeten wir bei der Darstellung des Hämins im Grossen nur die letztere billigere Sorte.

Werden frisch isolirte rothe Blutkörperchen mit Aceton und wässeriger Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt, so nimmt alsbald die Mischuug eine braunrothe Farbe an und der Farbstoff geht fast vollständig in die Lösung über. Beim Erkalten scheidet sich das Hämin in den für das Acetonhämin äusserst charakteristischen langen, gebogenen, haarförmigen Krystallen aus. Bei langsamem Erkalten werden auch dickere Krystalle erhalten; lässt man aber einen Tropfen der Lösung auf dem Objectglase verdunsten, so entstehen ebenfalls die feinen Nadeln, meistens vereinzelt, seltener sternförmig gruppirt. Die Krystallisationsfähigkeit des Hämins aus Aceton ist eine so grosse, dass das Aceton ebenso gut wie Eisessig zum gerichtlichen Nachweis des Blutes verwendet werden kann. Die blutbefleckten Gegenstände werden zunächst mit kleiner Menge 5- bis 10 proc. Salzsäure völlig aufgeweicht und erst dann mit 10 bis 20 ccm Aceton in einem Probierröhrchen einige Minuten auf dem Wasserbade zum Kochen erwärmt. Die braunroth gefärbte, filtrirte Lösung lässt man am besten auf einem Uhrglase bei Zimmertemperatur langsam verdunsten. Bei mikroskopischer Durchmusterung des Rückstandes wird man neben amorphen braunen Körnchen auch die charakteristischen Krystallnadeln des Hämins finden.

Um Hämin mit Aceton in grösseren Mengen darzustellen, hat sich folgendes Verfahren als zweckmässig erwiesen: Frisches defibrinirtes Rinderblut wurde zur Senkung der rothen Blutkörperchen mit dem neunfachen Volumen 4 proc. Kochsalzlösung vermischt und der nach mehrtägigem Stehen abgeschiedene Blutkörperchenbrei so lange mit Aceton unter Umrühren versetzt, bis sich das Hämoglobin als dickes Coagulum abgeschieden hat und die darüber stehende Flüssigkeit nur wenig gefärbt erscheint. Nach 24 Stunden wird das Hämoglobincoagulum abfiltrirt, zwischen Fliesspapier abgepresst und noch feucht zur Extraction verwendet. Je 400 g des Coagulums wurden mit 1300 ccm Aceton auf dem Wasserbade erwärmt, und als das Aceton zu sieden begann, mit 35 ccm Salzsäure — specifisches Gewicht 1.124 — versetzt und noch fünf Minuten lang im Sieden erhalten. Die Flüssigkeit wurde hierauf durch Mousseline filtrirt, resp. durchgepresst und sofort noch warm durch Faltenfilter filtrirt. Es ist dabei keine Gefahr vorhanden, erhebliche Mengen des Farbstoffes zu verlieren, da das Hämin nur langsam aus Aceton krystallisirt. Erst nach ein- bis dreitägigem Stehen erfolgt auf dem Boden und an der Wand des Becherglases die Bildung der charakteristischen Krystalle, die aber stark mit Eiweiss und Fett verunreinigt sind. Die abfiltrirten Krystalle wurden Anfangs mit Aether, hierauf mit 30 proc. Aceton, zuletzt mit 1 pro mille Salzsäure gewaschen und nach dem Trocknen von Neuem aus Aceton umkrystallisirt. Diese zweite Krystallisation bewerkstelligten wir auf folgende Weise: 8 g dieses Hämins und 8 g Chinin wurden mit 1200 ccm 80 proc. Acetons übergossen, tüchtig umgeschüttelt und gelinde, jedoch nicht bis zum Kochen, auf dem Wasserbade erwärmt. — (In absolutem Aceton ist dieses Hämin sehr wenig löslich, leichter in wässerigem und zwar am besten, wenn die Lösung auf 4 bis 5 Theile Aceton 1 Theil Wasser enthält.) — Ein Theil der Krystalle blieb ungelöst zurück, wovon abfiltrirt wurde. Das Filtrat wurde hierauf mit 16 ccm Salzsäure, specifisches Gewicht 1.124, versetzt und drei Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Am folgenden Tage wurden die abgeschiedenen Krystalle abfiltrirt, mit stufenweise verdünntem Aceton zuletzt mit saurem Wasser (1 pro

gewaschen und in vacuo sodann bei 100° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Die Elementaranalyse dieses in wässerigen Alkalien leicht löslichen Präparates ergab Zahlen, die am nächsten der Formel des Hämins $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ stehen. Gef. C 62.63 Proc.; H 5.38 Proc.; N. 8.75 Proc.; Cl 5.30 Proc.; Fe 9.06 Proc.; — leider waren die Krystalle nicht homogen. Nach der Untersuchung des Herrn Prof. Zemiatschensky besteht die Hauptmenge der Krystalle aus den haarförmigen gebogenen Nadeln mit schiefem Auslöschungswinkel, der an den kürzeren und geraden gemessen 40 bis 43° beträgt. Daneben sind auch kürzere und mehr breite Blättchen, deren Auslöschungswinkel 27 bis 31° beträgt, und in ganz geringer Menge spindelförmige Krystalle mit gerader Auslöschung vorhanden. 2 g des analysirten, bei 100° getrockneten Präparates, mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, gaben in den ersten Portionen des Destillates eine schwache Jodoformreaction, so dass die Krystalle eine minimale Menge von Aceton enthalten dürften. Die Menge des erhaltenen Jodoforms war so gering, dass an eine quantitative Bestimmung des Acetons nicht zu denken war. Im Zeisel'schen Apparate mit JH auf 145° erhitzt, gab dieses Präparat in der Silberlösung kaum eine Trübung.

Für das Verständniss der wahren Zusammensetzung der haarförmigen Krystalle ist die Thatsache von Bedeutung, dass sie sehr leicht in Acethämin verwandelt werden können. Man braucht nur die haarförmigen Krystalle in ammoniakalischem Alkohol oder chininhaltigem Chloroform aufzulösen und die filtrirte Lösung in den bei Acethämin angegebenen Verhältnissen mit heissem, kochsalzhaltigem Eisessig zu vermischen, um die typischen triklinischen Tafeln von der Zusammensetzung des Acethämins zu erhalten. Umgekehrt lässt sich auch das Acethämin in die charakteristischen haarförmigen Krystalle aus Aceton überführen. Reines Acethämin wurde genau wie das vorhin beschriebene Präparat in chininhaltigem 80 proc. Aceton gelöst, zu der filtrirten Lösung in dem gleichen Verhältniss wie oben Salzsäure zugesetzt und drei Minuten lang auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Die nach zweitägigem Stehen abgeschiedenen Krystalle waren auch jetzt nicht homogen. Ausser den haarförmigen Krystallen, die die Hauptmasse bildeten, war etwas Acethämin vorhanden. Auch diese Krystalle, wie die vorigen gewaschen und getrocknet, ergaben bei den Verbrennungen Zahlen, welche am nächsten der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ entsprechen. Gef. C 62.32 Proc.; H 5.24 Proc.; N 8.75 Proc.; Fe 8.86 Proc.; Cl 5.78 und 5.81 Proc.

Bemerkenswerth ist es, dass alle die von uns dargestellten Aether sowie das Hämin aus Amylalkohol nach Nencki und Sieber auf gleiche Weise wie das Acethämin mit Aceton behandelt, keine Krystalle geben. Im günstigsten Falle erhält man daraus sehr kleine spindelförmige Krystalle mit gerader Auslöschung, der grösste Theil des abgeschiedenen Hämins ist aber amorph.

Werden die haarförmigen Krystalle längere Zeit mit chininhaltigem Aceton in der Wärme digerirt, so bleibt auch nach langem Kochen und Zusatz von mehr Aceton ein Theil der Krystalle ungelöst zurück. Die filtrirte Lösung giebt nach Salzsäurezusatz meistens dicke gerade Krystalle, jedoch von keiner constanten Zusammensetzung und erheblich niedrigerem Gehalte an Stickstoff, Eisen und Chlor. Gef. C 63.17 Proc.; H 5.39 Proc.; N 8.21 und 8.27 Proc.; Fe 8.33 und 8.14 Proc.; Cl 4.52

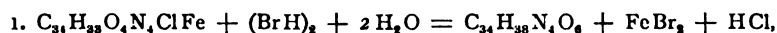
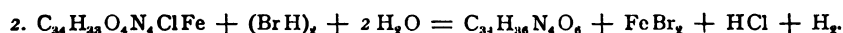
und 4.45 Proc., so dass hier theilweise Aetherbildung, theilweise auch Zersetzung wohl stattgefunden hat.

In der Hoffnung auf ein einheitliches Product haben wir auch versucht, aus den Blutkörperchen mit Essigäther das Hämin zu extrahiren. Der durch Senkung erhaltene Blutkörperchenbrei, mit Essigäther versetzt, coagulirt schlecht, so dass ziemlich viel des Farbstoffes in der Flüssigkeit hinterbleibt. Das erhaltene Hämoglobincoagulum ist in reinem Essigäther nur in Spuren löslich; wird aber dem Essigäther Salzsäure zugesetzt und die Flüssigkeit erwärmt, so geht viel Farbstoff in Lösung die sich jetzt braunroth färbt. Wir verwendeten auf 400 g des Blutcoagulums vier Liter Essigäther und 100 ccm Salzsäure vom specifischen Gewicht 1.19. Leider, wie man sich denken konnte, wird durch die Salzsäure der Essigäther gespalten und wir durften nur ein Gemenge von Acethämin und dessen Aethyläther erwarten. Thatsächlich schieden sich auch beim langsamen Verdunsten der warm filtrirten Lösung Anfangs überwiegend sechsseitige Tafeln mit gerader Auslöschung aus. Bei weiterer Krystallisation waren die typischen triklinischen Täfelchen mit dem Auslöschungswinkel von 33 bis 35° des Acethämins zahlreich vorhanden. Wir verzichteten deshalb auf weitere Analysen dieses nicht homogenen Productes.

Obgleich schon Bialobrzeski[1]) aus dem nach Schalfejeff mittelst Eisessig erhaltenen Hämin sowohl Hämatin von der Zusammensetzung $C_{32}H_{32}O_4N_4Fe$ als auch das salzsaure Hämatoporphyrin $= C_{16}H_{18}O_3N_2HCl$ in reinem Zustande dargestellt und analysirt hat, so war es uns doch wünschenswerth, nachdem wir gefunden haben, dass durch BrH in Eisessig schon in der Kälte Hämatoporphyrin entsteht, nachzuprüfen, ob das in der Kälte aus Acethämin bereitete Hämatoporphyrin die Zusammensetzung $C_{16}H_{18}O_3N_2$ habe. Es war denkbar, dass in der Kälte aus dem Acethämin durch Bromwasserstoff nach einer der zwei folgenden Gleichungen das Eisen abgespalten wird:

$$1.\ C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe + (BrH)_2 + 2\,H_2O = C_{34}H_{38}N_4O_6 + FeBr_2 + HCl,$$

oder auch

$$2.\ C_{34}H_{33}O_4N_4ClFe + (BrH)_2 + 2\,H_2O = C_{34}H_{36}N_4O_6 + FeBr_2 + HCl + H_2.$$

Den Hauptunterschied in ihrer Zusammensetzung im Vergleich zu der Zusammensetzung des Hämatoporphyrins $= C_{16}H_{18}N_2O_3$ zeigen die beiden obigen Formeln in ihrem Kohlenstoffgehalte. Das Hämatoporphyrin $C_{16}H_{18}N_2O_3$ enthält: 67.13 Proc. C, 6.29 Proc. H und 9.79 Proc. N. Die Formel $C_{34}H_{38}N_4O_6$ verlangt: 68.23 Proc. C, 6.35 Proc. H und 9.36 Proc. N und die um zwei Wasserstoffe ärmere $= C_{34}H_{36}N_4O_6$ verlangt: 68.45 Proc. C, 6.04 Proc. H und 9.39 Proc. N.

Wir haben 10 g reines Acethämin und 150 ccm mit BrH gesättigtem Eisessig drei Tage lang unter häufigem Umrühren bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am vierten Tage wurde die schön rothe Lösung in Wasser gegossen und, wie in der nachfolgenden Mittheilung beschrieben, verarbeitet. Das erhaltene salzsaure Hämatoporphyrin wurde noch einmal aus wässeriger Salzsäure umkrystallisirt und das jetzt unter dem Mikroskope aus vollkommen homogenen Nadeln bestehende Salz, nachdem es von der Mutterlauge abfiltrirt, mit verdünnter HCl nachgewaschen und zwi-

[1]) Ber. **29**, 2848. — Dieser Band S. 572.

schen Fliesspapier abgepresst war, von Neuem in Wasser gelöst und durch die nöthige Menge Natriumacetat in das freie Hämatoporphyrin verwandelt. Dieses Präparat vollkommen aschefrei mit Wasser gewaschen, in vacuo bis zu constantem Gewichte getrocknet, wog 1.93 g und ergab bei der Verbrennung 67.21 Proc. C, 6.39 Proc. H und 9.64 Proc. N, also Zahlen, welche gut mit der Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ übereinstimmen.

Ein zu gleicher Zeit durch kurzes Erwärmen auf dem Wasserbade nach 24stündigem Stehen mit Bromwasserstoff aus dem Hämin nach Nencki und Sieber, sonst aber auf gleiche Weise bereitetes Hämatoporphyrin ergab bei der Verbrennung 67.08 Proc. C, 6.24 Proc. H und 9.62 Proc. N.

Auf Grund der nunmehr aufgefundenen Thatsachen können die meisten Widersprüche in den Angaben über das Hämin und Hämatin aufgeklärt werden.

Aus dem Hämoglobin wird durch Eisessig nach dem ursprünglich von Teichmann angegebenen, später von verschiedenen anderen Autoren und zuletzt von Schalfejeff verbesserten Verfahren das Acethämin abgespalten. Höchst wahrscheinlich ist in diesem Körper sowohl das Chlor, wie das Acetyl an das Eisen gebunden, denn sobald das letztere mittelst Bromwasserstoff aus dem Molekül des Acethämins herausgeholt ist, wird auch das Chlor und das Acetyl abgespalten. Beim Verseifen des Acethämins mittelst kalter Natronlauge bleibt noch das Eisen im Molekül, das Chlor und Acetyl aber werden abgespalten. Die Verseifung ist aber nicht eine vollkommene, da das Hämatin noch immer minimale Mengen von Chlor enthält und auch die Zahlen für C, N und Fe in einigen Analysen etwas niedriger als die theoretischen Werthe ausfallen (vgl. Białobrzeski l. c. S. 2848). Auch aus dem aus dem Amylalkohol nach der Vorschrift von Nencki und Sieber dargestellten Hämin, in welchem mehrere Moleküle des Hämins durch ein Molekül Amylalkohol zusammengehalten werden, wird bei der Verseifung mit Natronlauge das Hämatin von der Zusammensetzung $C_{32}H_{32}O_4N_4Fe$ erhalten.

Allem Anscheine nach sind die haarförmigen mittelst Aceton erhaltenen Krystalle mit dem Auslöschungswinkel von 40 bis 43° das freie Hämin von der Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$, obgleich bei der ausserordentlichen Neigung dieses Farbstoffs, sich mit anderen Substanzen zu verbinden, auch mittelst Aceton kein absolut reines Product erhalten wurde. Dass aus dem Aether des Hämins resp. Acethämins, in welchem nur ein Hydroxylwasserstoff durch Alkyl ersetzt ist, beim Verseifen durch Alkalien in der Kälte freies Hämatin entstehen werde, ist bei der relativen Beständigkeit der Aether kaum zu erwarten; eher ist es wahrscheinlich, dass z. B. aus dem Monoäthylacethämin ein Aethylhämatin erhalten werden wird. Erwärmen mit Alkalilaugen hat die Gefahr, dass auch das Eisen aus dem Molekül herausgelöst werden kann. Der Dimethyl- und Diäthyläther des Hämins, die erst beim Kochen mit Natronlauge in Lösung übergehen, dürften schwerlich dabei ein einheitliches Product liefern.

In Anbetracht der durch diese Untersuchungen erweiterten Kenntnisse des Hämins halten wir es nochmals für angezeigt, die Angaben von H. Bertin-Sans und J. Moitessier[1]) sowie die von Preyer[2]) über die Synthese des Hämoglobins

[1]) Bull. soc. chim., Paris, Mai 1893.

[2]) Ber. **30**, 190.

aus Hämatin und Eiweiss als wenig wahrscheinlich zu bezeichnen. In dem Versuche Preyer's ist es überhaupt fraglich, ob das Hämoglobin, aus welchem er die Synthese bewerkstelligt haben will, überhaupt zerstört war.

Schon vor längerer Zeit wurde im Laboratorium des Einen von uns noch in Bern durch Herrn M. Lebensbaum[1]) gezeigt, dass bei der Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin Sauerstoff und Wasser aufgenommen werden, resp. zum Zustandekommen dieser Reaction nothwendig sind. Bei der Synthese des Hämoglobins müsste also der umgekehrte Process, d. h. Abspaltung von Wasser und Sauerstoffentziehung, stattfinden, Reactionen, die schwerlich durch Zusammenmischen von Hämatin mit Eiweiss realisirt werden. Bei der Aehnlichkeit des Spectrums des Oxyhämoglobins mit den Spectren der Farbstoffe aus der Hämatingruppe ist hier Vorsicht geboten und spectroskopische Befunde allein sind nicht entscheidend. So liegen z. B., wie uns vergleichende Versuche gezeigt haben, die beiden Absorptionsstreifen des kürzlich von Arnold[2]) als Hämatin in neutraler Lösung beschriebenen Farbstoffs zwischen den am meisten nach Violett zu verschobenen zwei Streifen des Hämochromogens und den beiden am meisten nach Roth zu liegenden Streifen des Oxyhämoglobins. Der Hauptunterschied zwischen dem Arnold'schen Farbstoff und dem Oxyhämoglobin ist, dass beim letzteren der nach Roth zu liegende Streifen stark Licht absorbirt und scharf begrenzt ist, während bei dem Arnold'schen Farbstoff das Umgekehrte der Fall ist. Das sicherste Kriterium, nämlich die Darstellung künstlicher Oxyhämoglobinkrystalle, bleibt noch aus. Wir wollen keineswegs behaupten, dass die Hämoglobinsynthese eine Sache ferner Zukunft sei, glauben aber, dass es noch weiterer Untersuchungen namentlich über das Hämochromogen bedarf, das nach den interessanten Versuchen des Herrn v. Zeynek[3]) ein nicht allzu schwer zugänglicher Körper ist, um Mittel und Wege zur Hämoglobinsynthese zu finden.

Erklärung der photographischen Tafel VI.

Fig. 1. Acethämin aus Eisessig umkrystallisirt.
Fig. 2. Sechsseitige Tafeln des Hämins aus Amylalkohol.
Fig. 3. Diäthyläther des Acethämins.
Fig. 4. Monoamyläther des Acethämins.
Fig. 5. Hämin aus Aceton.
Fig. 6. Hämin aus einem Tropfen Blut, mit Salzsäure und Aceton erhalten.
Sämmtliche Bilder bei 75 maliger Vergrösserung aufgenommen.

II. Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins.

Bei der Beschreibung des Darstellungsverfahrens des mittelst Bromwasserstoff in Eisessig erhaltenen Hämatoporphyrins wurde angegeben, dass gegen Ende der Operation, zur völligen Umwandlung des Hämins, die Lösung auf dem Wasserbade

[1]) Wiener Monatshefte für Chemie **8**, 165 bis 179. — Dieser Band S. 42.
[2]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie **29**, 79.
[3]) Ebenda **25**, 492.

erwärmt werden soll [1]). Seither haben wir mitgetheilt [2]), dass, um bessere Ausbeute an Hämatoporphyrin zu erzielen, es zweckmässig ist, vor dem Erwärmen das Hämin mit der Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Wir haben in der letzten Zeit, und zwar mit Vortheil, das Erwärmen auf dem Wasserbade ganz weggelassen. Unser jetziges Verfahren zur Darstellung des Hämatoporphyrins ist daher folgendes:

Je 5 g Hämin — es ist besser, mit kleinen Portionen zu operiren — werden in 75 ccm bei 10° C. mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig (welche Lösung von der Firma Kahlbaum in Berlin bezogen werden kann) in kleinen Portionen und unter häufigem Umrühren eingetragen. Man lässt nun die Flüssigkeit drei bis vier Tage bei Zimmertemperatur stehen, schüttelt öfters um, und wenn alles Hämin gelöst ist und die Lösung die schön rothe Farbe des Hämatoporphyrins angenommen hat, wird der Kölbcheninhalt in destillirtes Wasser gegossen und nach mehrstündigem Stehen, wobei nur ein ganz geringer Bodensatz entsteht, filtrirt. Die weitere Verarbeitung geschieht, wie früher angegeben, d. h. die filtrirte Lösung wird so lange mit Natronlauge versetzt, bis aller Bromwasserstoff neutralisirt ist, wobei der in verdünnter Essigsäure unlösliche Farbstoff fast vollständig ausfällt. Man lässt absetzen und wäscht den Niederschlag durch Decantation so lange aus, bis das Filtrat mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr giebt. Der ausgewaschene Niederschlag wird, nachdem er durch Liegen auf Fliesspapier den grössten Theil des Wassers verloren, noch feucht mit reiner verdünnter Natronlauge auf warmem Wasserbade eine Viertelstunde digerirt, von dem abgeschiedenen Eisenoxydulsalz filtrirt und aus dem alkalischen Filtrat durch Essigsäure der Farbstoff gefällt. Das abgeschiedene Hämatoporphyrin wird jetzt von Neuem gut ausgewaschen, vom Filter abgehoben, mit wenig Wasser in einer Schale zu einem dicken Brei angerührt und unter Umrühren mit kleinen Portionen Salzsäure so lange versetzt, bis der Farbstoff in Lösung gegangen ist. Das salzsaure Hämatoporphyrin ist in Wasser leicht löslich, mit zunehmendem Gehalt an Säure nimmt die Löslichkeit bedeutend ab; es ist deshalb rathsam, nach erfolgter Lösung von dem geringen harzigen Rückstand abzufiltriren und dem Filtrat noch Salzsäure zuzusetzen. Sollte jetzt noch ein harziger Niederschlag entstehen, so filtrirt man von Neuem davon ab und stellt das Filtrat im Vacuum über SO_4H_2 zur Krystallisation auf. Gewöhnlich schon nach einigen Stunden erstarrt die Flüssigkeit in der Schale zu einem Krystallbrei. Man lässt jedoch noch zwei bis drei Tage im Vacuum stehen, filtrirt hierauf auf einem Saugfilter ab und wäscht die Krystalle mit 10proc. Salzsäure nach.

Durch einmaliges Umkrystallisiren der auf obige Weise zwischen Fliesspapier getrockneten Krystalle wird das salzsaure Hämatoporphyrin chemisch rein erhalten. Den Vortheil dieses verbesserten Verfahrens illustrirt folgender Versuch:

Je 10 g der mittelst Kochsalz und Eisessig dargestellten Häminkrystalle wurden mit 150 ccm BrH in Eisessig drei Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde die eine Portion sofort in 1.5 Liter Wasser gegossen, die zweite Por-

---

[1]) Wiener Monatshefte f. Chem. **9**, 117. — Dieser Band S. 76.

[2]) Ebenda **10**, 568. — Dieser Band S. 127.

tion erst auf dem Wasserbade erwärmt, bis der grösste Theil von BrH entwichen war, und ebenfalls mit 1.5 Liter Wasser vermischt. Die weitere Verarbeitung geschah wie oben angegeben. Nach Entfernung des Eisenoxyduls wurde das alkalische Filtrat gemessen und aus je 20 ccm das Hämatoporphyrin mit Essigsäure ausgefällt, gewaschen, im Vacuum getrocknet und gewogen. Andererseits wurde die Hauptmenge des Filtrates auf salzsaures Hämatoporphyrin verarbeitet.

Aus 10 g des nicht erwärmten Hämins erhielten wir 9.1 g Hämatoporphyrin und 9.2 g der im Vacuum getrockneten, nicht umkrystallisirten Krystalle des salzsauren Salzes.

Aus 10 g des erwärmten Hämins erhielten wir 8.8 g Hämatoporphyrin und 4.97 g des salzsauren Salzes.

Im ersteren Falle war die Lösung prächtig roth, während sie im zweiten Falle, also nach dem Erwärmen, einen Stich ins Bräunliche hatte; auch krystallisirte das salzsaure Salz aus der nicht erwärmten Portion viel schöner und reichlicher aus. Dieser Versuch bestätigt die übrigens schon von W. Küster[1]) hervorgehobene Thatsache, dass das Häminmolekül aus zwei Hämatoporphyrinmolekülen aufgebaut ist, welche vielleicht durch das Eisen zusammengehalten werden. Alle Aether des Hämins geben dasselbe Hämatoporphyrin. Wir haben ausser dem früher von Nencki und Sieber mittelst Amylalkohols dargestellten Hämin auch das Acethämin und das Aethylacethämin in Hämatoporphyrin verwandelt und in den Löslichkeitsverhältnissen und der Krystallform des salzsauren Salzes keinen Unterschied gefunden; auch ergaben die Elementaranalysen des aus den eben genannten Häminen dargestellten Hämatoporphyrins die gleichen, mit der Formel $C_{16}H_{18}N_2O_3$ übereinstimmenden Zahlen[2]). Nur ist die Ausbeute an Hämatoporphyrin verschieden; das beste Resultat wurde aus Acethämin oder dem Hämin nach Nencki und Sieber erhalten; geringer ist die Ausbeute aus dem Methyl- resp. Aethyläther. Zur völligen Spaltung resp. Verseifung ist es hier zweckmässig, die bromwasserstoffsaure Lösung nach drei- bis viertägigem Stehen kurze Zeit in einem auf 50 bis 60° temperirten Wasserbade vor dem Eingiessen in das Wasser zu erwärmen. Reines Hämatin mit Bromwasserstoff in Eisessig nach mehrtägigem Stehen bei Zimmertemperatur giebt ebenfalls Hämatoporphyrin, jedoch in bedeutend geringerer Menge. Wir haben so aus Hämatin das salzsaure Hämatoporphyrin rein und krystallinisch dargestellt.

Salzsaures Hämatoporphyrin ist in Alkohol, namentlich 60- bis 70 proc., bedeutend leichter löslich als in Wasser, doch eignet sich Alkohol zum Umkrystallisiren dieser Verbindung nicht. Die Lösung muss ziemlich weit im Vacuum concentrirt werden und die abgeschiedenen Krystalle sind sehr klein und nicht schön ausgebildet. In alkoholischem Ammoniak gelöstes Hämatoporphyrin bildet damit beim Stehen im Vacuum ein in rothen Nadeln krystallisirendes Salz, das jedoch sehr unbeständig ist. Um das Ammoniaksalz in grösserer Menge darzustellen, wurde reines, aus dem krystallinischen salzsauren Salze mit Natriumacetat gefälltes Hämatoporphyrin in alkoholischem Ammoniak gelöst und die vom Ungelösten filtrirte

[1]) Ber. 30, 105.

[2]) Vgl. die vorhergehende Mittheilung u. Białobrzeski, Ber. 29, 2850.

Lösung im Vacuum über SO_4H_2 zum Verdunsten hingestellt. Nach zweitägigem Stehen bildete sich am Rande eine braune Krystallkruste, während am Boden der Schale ganz homogene Krystallnadeln sich absetzten. Sie wurden, ohne die Randkruste mitzunehmen, abfiltrirt, mit etwas absolutem Alkohol nachgewaschen, Anfangs auf Fliesspapier, sodann, da uns Vorversuche zeigten, dass das Salz leicht Ammoniak verliert, im Exsiccator über Chlorcalcium und Salmiak getrocknet. Trotzdem verlor das Präparat fortwährend an Gewicht und bräunte sich an der Oberfläche stark. Als das Präparat nach mehrwöchentlichem Stehen annähernd constantes Gewicht erlangte, ergab eine Stickstoffbestimmung, dass das Salz sich fast vollständig dissociirt hatte. Gefunden wurden 10.52 Proc. N. Berechnet für $C_{16}H_{18}N_2O_3NH_3$ 13.8 Proc. N; für $C_{16}H_{18}N_2O_3$ 9.79 Proc. N.

Auf ähnliche Weise suchten wir auch das Kaliumsalz zu bereiten, doch konnten wir es weder aus der alkoholischen noch aus der wässerigen Lösung krystallinisch erhalten.

Von besonderm Interesse mit Rücksicht auf den molekularen Bau des Hämatoporphyrins war es, den Charakter der drei Sauerstoffatome dieser Substanz zu bestimmen. Weder mit Diamid noch mit alkoholischer Phenylhydrazinlösung und Essigsäure haben wir ein Derivat erhalten, so dass die Gegenwart eines Aldehyd- oder Ketonsauerstoffs im Hämatoporphyrin ausgeschlossen ist. Das Hämatoporphyrin verhält sich wie eine Amidosäure, da es sowohl mit Säuren wie mit Basen Verbindungen eingeht. Fraglich ist es nur, ob der saure Charakter durch Carboxyl oder Hydroxylgruppen bedingt ist. Um der Frage näher zu treten, haben wir den Methyl- und den Aethyläther des Hämatoporphyrins dargestellt und constatirt, dass in dem Hämatoporphyrinmolekül zwei Wasserstoffe durch Alkyl ersetzt werden.

Wird in eine methyl- oder äthylalkoholische Lösung des Hämatoporphyrins trockenes Salzsäuregas eingeleitet, so findet zwar eine Aetherificirung statt, kenntlich daran, dass durch Wasserzusatz ein Theil der Substanz gefällt wird und sich in verdünnter Natronlauge nicht mehr löst; aber selbst bei mehrstündigem Einleiten des Gases und Erwärmen bleibt ein beträchtlicher Theil des Hämatoporphyrins unverändert, während ein anderer Theil in die Anhydridverbindung übergeht und verharzt, so dass wir es zweckmässiger gefunden haben, den Vorschlag von E. Fischer und A. Speier[1]) befolgend, das Hämatoporphyrin in alkoholischer Lösung bei geringerem Säuregehalt zu ätherificiren.

2 g chemisch reines Hämatoporphyrin wurden mit einer Mischung von 20 g absolutem Methylalkohol und 2 g conc. SO_4H_2 auf dem Wasserbade am Rückflusskühler vier Stunden lang erwärmt. Hierauf wurde die schön violettrothe Lösung in 2 Liter Wasser unter Umrühren gegossen und der feinkörnige, amorphe und schlecht filtrirende Niederschlag auf einem Filter aus gehärtetem Papier unter Anwendung der Saugpumpe abfiltrirt und mit Wasser bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaction gewaschen. Das nur an der Luft zwischen Fliesspapier getrocknete und in verdünnter Natronlauge in der Kälte völlig unlösliche Präparat ergab bei der Elementaranalyse folgende Zahlen:

---

[1]) Ber. **28**, 3252.

0.2371 g gaben 0.5996 g CO_2 u. 0.1472 g H_2O entsprechend 68.96 Proc. C u. 6.90 Proc. H.
0.1572 g gaben 11.8 ccm N-Gas bei 14.7° T. u. 757 mm Bst. = 8.80 Proc. N.

Ein anderes Präparat haben wir mittelst 5 proc. Chlorwasserstoffs ätherificirt. 4.5 g krystallisirtes salzsaures Hämatoporphyrin wurden an der Luft, später im Vacuum getrocknet, hierauf mit 50 ccm absoluten Methylalkohols, der 5 Proc. HCl enthielt, 12 Stunden lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbade zum Kochen erhitzt. Die schön rothe Lösung wurde hierauf in 2 Liter Wasser gegossen, der feine und schlecht filtrirende, amorphe Niederschlag auf ein Saugfilter von gehärtetem Filtrirpapier gebracht und bis zum Verschwinden des Chlors im Filtrate ausgewaschen. Das Anfangs zwischen Fliesspapier, sodann über SO_4H_2 getrocknete Präparat ergab bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0.2722 g gaben 0.6907 g CO_2 u. 0.1733 g H_2O = 69.18 Proc. C u. 7.07 Proc. H.
0.2417 g gaben 17.9 ccm N-Gas bei 16.4° T. u. 769 mm Bst. = 8.76 Proc. N.

Aus den übereinstimmenden Analysen der beiden Präparate geht hervor, dass in dem Hämatoporphyrinhydrat zwei Hydroxylwasserstoffe durch Methyl ersetzt wurden.

Berechnet für $C_{16}H_{16}(OCH_3)_2N_2O$:		Gefunden:		
C	68.79 Proc.	C	68.96 und	69.18 Proc.
H	7.00 „	H	6.90 „	7.07 „
N	8.91 „	N	8.80 „	8.76 „

Diese Formel wird noch durch eine Methoxylbestimmung bestätigt, wobei das mittelst HCl erhaltene Dimethylhämatoporphyrin mit Jodwassertoff im Zeisel-schen Apparate allmählich auf 145° erhitzt wurde.

0.2301 g gaben 0.3053 g AgJ = 8.47 Proc. CH_3. Ber. für $C_{16}H_{16}(OCH_3)_2N_2O$ 9.5 Proc. CH_3. Es wurde also auch hier ähnlich wie bei einigen Häminäthern, etwa 1 Proc. Alkyl zu wenig gefunden. Die procentische Zusammensetzung des Monomethyläthers $C_{16}H_{17}(OCH_3)N_2O_2$ ist, C 68.00 Proc., H 6.66 Proc., N 9.33 Proc. und der Gehalt an Methyl = 4.7 Proc.

Aus 4.5 g des salzsauren Hämatoporphyrins erhielten wir 3.5 g des Aethers.

Das Dimethylhämatoporphyrin ist ein amorphes ziegelrothes Pulver, das an der Luft sich bald oberflächlich bräunt und missfarbig wird, weshalb es für Elementaranalysen möglichst sorgfältig und rasch zwischen gehärtetem Fliesspapier (um jede Verunreinigung durch Papierfasern zu vermeiden), sodann im Exsiccator getrocknet werden muss. In Wasser und verdünnten Alkalien ist es völlig unlöslich und erst beim Kochen mit den letzteren geht es allmählich in Lösung über. Leicht löslich ist es in Alkohol, Methylalkohol, Aether, Essigäther, Benzol und wässerigen Mineralsäuren und wird dem Aether, Essigäther oder Benzol durch wässerige Salzsäure entzogen. Es gelang uns aber nicht, weder mit Salzsäure noch mit anderen Säuren, krystallinische Salze des Dimethylhämatoporphyrins darzustellen. Im Capillarröhrchen erhitzt, beginnt das Dimethylhämatoporphyrin schon gegen 60° zu sintern und ist gegen 85° unter Gasentwickelung zu einem klaren Tropfen geschmolzen. Als eine Probe der Substanz gegen 100° erwärmt wurde, schmolz sie zu einer dunkelrothen Flüssigkeit, es entwich Methylalkohol und hinterblieb ein amorpher Rückstand, der in Säuren und Alkalien unlöslich war und dessen Elementaranalysen

am nächsten der Formel $C_{34}H_{36}N_4O_4$, also wahrscheinlich $C_{32}H_{30}(CH_3)_2N_4O_4$ entsprachen. Aber ebensowenig wie aus dem Hämatoporphyrinhydrat das Anhydrid $C_{32}H_{32}N_4O_4$, gelang es uns, aus dem Dimethyläther, selbst beim Erhitzen auf 130°, den Aether des Hämatoporphyrinanhydrids rein zu erhalten.

Auf ähnliche Weise wie den Dimethyläther haben wir auch den Diäthyläther des Hämatoporphyrins dargestellt. Auch dieser Aether schmilzt und spaltet Aethylalkohol schon unter 100° ab. Ein bei 110 bis 115° bis zu constantem Gewichte getrocknetes Präparat des Diäthylhämatoporphyrins ergab uns bei der Verbrennung 72.28 Proc. C, 6.49 Proc. H und 9.24 Proc. N, also Zahlen, welche ziemlich nahe der Formel $C_{32}H_{30}(C_2H_5)_2O_4N_4$ stehen. (Ber. 72.97 Proc. C, 6.75 Proc. H, 9.46 Proc. N.) Dieses Product war in verdünnten Mineralsäuren und Alkalien unlöslich, wenig löslich in Benzol und Aether, leicht löslich in Alkohol und schied sich in amorphen, rothen Flocken durch Wasserzusatz aus der alkoholischen Lösung ab. Durch Behandlung des Hämatoporphyrinhydrats mit Essigsäureanhydrid erhielten wir dagegen ein Product, dessen Zusammensetzung gut mit der Formel des anhydridischen Monoacetylhämatoporphyrins übereinstimmte.

1 g krystallisiertes salzsaures Hämatoporphyrin wurde mit 2 g entwässertem Natriumacetat und 5 g Essigsäureanhydrid 1/4 Stunde am Rückflusskühler zum Kochen erhitzt, die dunkel braunrothe Lösung nach dem Erkalten mit Wasser versetzt und das in amorphen braunrothen Flocken abgeschiedene Product auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen. Diese in Wasser unlösliche, in Alkohol nur wenig lösliche Verbindung, in vacuo über SO_4H_2 bis zu constantem Gewichte getrocknet, ergab bei der Verbrennung: 70.53 Proc. C, 6.02 Proc. H, 9.73 Proc. N. Die Formel $C_{32}H_{31}(COCH_3)N_4O_4$ verlangt 70.60 Proc. C, 5.88 Proc. H und 9.69 Proc. N.

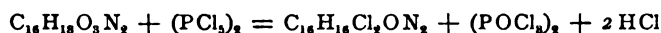
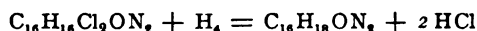
Die Spectra der nur an der Luft oder im Vacuum über SO_4H_2 getrockneten beiden Alkyläther fallen mit dem Spectrum des Hämatoporphyrins in alkalischer resp. saurer Lösung zusammen. Nach dem Trocknen bei 110° sind alle Absorptionsbänder, sowohl in saurer wie in alkalischer Lösung, die gleichen wie die des Hämatoporphyrinhydrats, nur sind sie alle um ein weniges nach Roth zu verschoben, etwa um so viel, wie das Spectrum des Phylloporphyrins im Vergleich mit dem des Hämatoporphyrinhydrats nach Violett zu verschoben ist. Früher wurde schon von dem Einen von uns und N. Sieber durch Verreiben der Häminkrystalle mit concentrirter SO_4H_2 ein Hämatoporphyrin erhalten, das leicht löslich in Alkalien, unlöslich aber in verdünnten Säuren und Alkohol ist und für welches auf Grund der analytischen Zahlen die Formel $C_{32}H_{34}N_4O_5$ als die wahrscheinlichste angenommen wurde [1]). Es ist dies also das erste Anhydrid des Hämatoporphyrins, aus zwei Molekülen des Hydrats unter Austritt von H_2O entstanden $(C_{16}H_{18}N_2O_3)_2 = C_{32}H_{34}N_4O_5 + H_2O$. Ein Tetrahydroproduct dieses Hämatoporphyrins ist die durch Einwirkung verschiedener Reductionsmittel auf Hämin oder Hämatoporphyrin entstehende und von uns als Hexahydrohämatoporphyrin früher beschriebene Verbindung [2]). Die durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Hämatoporphyrin

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **20**, 330. — Nencki's Opera omnia **1**, 793.
[2]) Ebenda **20**, 331.

entstehende Verbindung ist das Acetylderivat des zweiten Anhydrids des Hämatoporphyrins von der Formel $C_{32}H_{32}N_4O_4$. Wir haben die Untersuchung über das Hämatoporphyrin wieder aufgenommen, indem wir uns als Hauptziel vorgesetzt haben, eine Reaction zu finden, um vom Hämatoporphyrin durch Entziehung von zwei Atomen Sauerstoff zu dem Phylloporphyrin, dem von Marchlewski und Schunck[1]) genauer untersuchten Derivate des Chlorophylls zu gelangen. Bei der Eigenschaft des Hämatoporphyrins, unter Wasseraustritt Anhydride zu bilden, deren Spectra noch mehr als wie das des Hydrats vom Spectrum des Phylloporphyrins, entfernt sind, konnten wir von vornherein erwarten, dass Erwärmen auf Temperaturen über 100°, oder Anwendung wasserentziehender Agentien uns nicht zum Ziele führen würden. Leider erwies sich das sonst so energisch Sauerstoff entziehende Diamid dem Hämatoporphyrin gegenüber als unwirksam. In wässeriger oder alkoholischer Lösung bei Luftausschluss mit Diamid geschüttelt und erwärmt, bleibt das Hämatoporphyrin unverändert. Im Spectrum fallen die Absorptionsbänder des so behandelten Hämatoporphyrins mit denen des Hämatoporphyrinhydrats zusammen. Wir versuchten, dem Beispiele E. Fischer's[2]) anlässlich seiner Untersuchungen über die Harnsäure folgend, die beiden Hydroxyle des Hämatoporphyrins zunächst mittelst PCl_5 durch Chlor und hierauf die zwei Chloratome durch Wasserstoff nach folgendem Schema:

$$C_{16}H_{18}O_3N_2 + (PCl_5)_2 = C_{16}H_{16}Cl_2ON_2 + (POCl_3)_2 + 2\,HCl$$

und

$$C_{16}H_{16}Cl_2ON_2 + H_4 = C_{16}H_{18}ON_2 + 2\,HCl$$

zu ersetzen.

10 g PCl_5 wurden mit 60 g Tetrachlorkohlenstoff übergossen, der Flüssigkeit 2 g reines Hämatoporphyrinhydrat zugesetzt und in einem Kölbchen fünf Stunden lang am Rückflusskühler erwärmt. Eine Einwirkung fand statt. Es entwich HCl und der grösste Theil des Hämatoporphyrins ging in Lösung über. Die gelbbraune Flüssigkeit wurde hierauf vom Ungelösten filtrirt, über Nacht über SO_4H_2 und Aetzkalk im Vacuum stehen gelassen, am nächsten Tage mit Aether übergossen und zur Zerstörung des $POCl_3$ mit Wasser geschüttelt. Die abgehobene ätherische Lösung wurde verdunstet und der braune amorphe Rückstand in Chloroform gelöst. Nach Abdestilliren des Chloroforms hinterblieb ein brauner Farbstoff in amorphen Körnern zurück, unlöslich in Wasser, in Aether und Alkohol mit braungelber Farbe mit einem Stich in Grün löslich. Die Lösung, passend verdünnt, zeigt im blauen Theil des Spectrums zwischen der Linie F und der Strontiumlinie einen ziemlich scharf begrenzten Absorptionsstreifen der Wellenlänge $\lambda = 479$ bis 466 entsprechend. In verdünnter Natronlauge löst sich der Farbstoff allmählich auf zu einer klaren braunrothen Flüssigkeit, die im Spectrum keinen Absorptionsstreifen mehr zeigt.

Dieser Versuch war also misslungen, da die Reaction zu weit gegangen ist. Wir versuchten sodann ein biologisches Reductionsmittel — nämlich anaërobiotische Bacterien. Es gelang aber auch dadurch nicht, dem Hämatoporphyrin die zwei Sauerstoffatome zu entziehen.

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm. **278**, 329.
[2]) Ber. **17**, 328.

Es wurden zwei Kolben mit einer Nährlösung von 2.5 g Wittepepton, 0.5 g Traubenzucker und 0.5 g Hämatoporphyrinkalium in 500 ccm Wasser sterilisirt; der eine mit Sporen von Tetanus, der andere mit den Bacillen des malignen Oedems geimpft und nach zweistündiger Durchleitung von Wasserstoff unter Luftabschluss bei Bruttemperatur stehen gelassen. Schon am nächsten Tage trat in beiden Kolben Gährung ein unter Entwickelung stinkender Gase. Am 4. Tage war das Hämatoporphyrin als rother Bodensatz abgeschieden und die Lösungen begannen sich zu klären. Am 8. Gährungstage wurde der Kolben mit Tetanus und am 12. der mit malignem Oedem geöffnet. In beiden Kolben war der Inhalt stark übelriechend, die Reaction schwach sauer, und wie die Ueberimpfungen zeigten, waren die Culturen durch andere Mikroben nicht verunreinigt. Das abfiltrirte und ausgewaschene Hämatoporphyrin erwies sich bei der spectroskopischen vergleichenden Prüfung mit reinem Hämatoporphyrin, sowie durch die Darstellung des krystallinischen salzsauren Salzes als unverändert.

Da in diesen beiden Versuchen durch Zusatz von Traubenzucker die Nährlösung sauer und dadurch das Hämatoporphyrin gleich bei Eintritt der Gährung gefällt wurde, so wiederholten wir den Versuch und impften eine Nährlösung, die in 400 ccm nicht sterilisirten Leitungswassers 4 g Wittepepton und 0.2 g Hämatoporphyrinkalium enthielt, mit Cholerabacillen. Der atmosphärische Sauerstoff wurde auch hier durch Wasserstoff vertrieben und der Kolben unter Luftausschluss in einen Thermostaten gestellt. Am folgenden Tage starke Gährung und Entwickelung stinkender Gase; Hämatoporphyrin noch gelöst. Nach dreitägiger heftiger Gährung liess die Gasentwickelung nach und ein geringer Theil des Hämatoporphyrins ist in dem schleimigen Bodensatze abgesetzt. Am 8. Tage ist die Flüssigkeit geklärt, keine Gasentwickelung, der grösste Theil des Hämatoporphyrins im Bodensatze. Der Kolben wird jetzt geöffnet und sein Inhalt entwickelt einen pestilenzialischen Geruch. Mikroskopisch sind nur spärlich Cholerabacillen vorhanden, daneben in grosser Menge lange, bewegliche Bacillen, Kurzstäbchen und Coccen. Die Reaction der Flüssigkeit alkalisch. Sowohl die filtrirte Lösung wie der ausgewaschene Bodensatz zeigen spectroskopisch und chemisch alle Eigenschaften des unveränderten Hämatoporphyrins. Phylloporphyrin konnten wir keins darin finden.

Durch die schönen Untersuchungen von W. Küster[1]) und seiner Mitarbeiter wissen wir, dass das Hämatoporphyrin, mit einer Ausbeute von gegen 50 Proc., zu einer Säure von der Formel $C_8H_9NO_4$ oxydirt werden kann, welche durch Kochen mit Alkalien unter Aufnahme von H_2O und Abspaltung von NH_3 in die Säure $C_8H_8O_5$ übergeht. Durch Reduction mit Jodwasserstoff geht die letztere in die von M. Kölle[2]) dargestellte dreibasische Hämotricarbonsäure $= C_8H_{12}O_6$ über, welche einer vergleichenden Zusammenstellung dieses Autors zufolge in allen Stücken der von Auwers, Köbner und Meyenburg[3]) synthetisch dargestellten Aethyltricarballylsäure gleicht.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **28**, 34.
[2]) Dessen Inaugural-Dissertation, Tübingen 1898.
[3]) Ber. **24**, 310 und 2897.

Wenn auch die als erstes Oxydationsproduct auftretende Säure von der Formel $C_8H_9NO_4$, sowie die Säure $C_8H_8O_5$ als cyklische Verbindungen aufgefasst werden können, so ist jedenfalls in der Hämotricarbonsäure der Ring gesprengt. Ob das Hämatoporphyrin aus zwei Atomgruppen mit acht Kohlenstoffen aufgebaut ist oder ob die noch fehlenden 50 Proc. an Spaltungsproducten andere Atomgruppirung haben, bleibt noch zu untersuchen und es wäre verfrüht, schon jetzt Vermuthungen über die Constitution des Hämatoporphyrinmoleküls zu äussern. Wir wollen aber nicht unterlassen, auf eine Beobachtung hinzuweisen, welche vielleicht zu den von Küster entdeckten Oxydationsproducten des Hämatoporphyrins in Beziehung steht.

Schon im Jahre 1868 entdeckten O. Schultzen und L. Riess[1]) im Harn von Patienten, die an acuter Leberatrophie gestorben sind, eine Säure von der Zusammensetzung $C_8H_8O_4$. Sie schmilzt bei 162⁰ und giebt, im Glasrohre mit Kalkhydrat erhitzt, braune, ölige Tropfen, welche deutlich nach Phenol riechen und in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid eine dunkelviolette Färbung geben (l. c. S. 73).

Auf Grund ihrer Analysen und dieser Reaction betrachten sie diese Säure als Oxymandelsäure und bei dem gleichzeitigen Auftreten von Tyrosin im Harn sind sie der Ansicht, dass sie aus dem letzteren abstamme, entsprechend der Gleichung:

$$C_9H_{11}NO_3 + O_3 = CO_2 + NH_3 + C_8H_8O_4.$$

Ob die vermuthliche Oxymandelsäure optisch activ war, haben Schultzen und Riess nicht geprüft.

Wie man sieht, unterscheidet sich die Säure von Schultzen und Riess von der Küster'schen stickstofffreien Säure $C_8H_8O_5$ nur durch ein Minus von 1 Atom Sauerstoff. Wünschenswerth wäre es, zu wissen, ob die Küster'schen Säuren nicht optisch activ resp. racemisch sind; denn es ist auffallend, dass nicht einmal bei der Phosphorvergiftung, sondern nur bei der acuten Leberatrophie, wo mit dem raschen Schwund des Leberparenchyms zahlreiche Blutextravasate auftreten, also jedenfalls Zerstörung des Blutfarbstoffs stattfindet, die Säure $C_8H_8O_4$ im Harne gefunden wurde. Andererseits zeigen die erst kürzlich aus unserem Institute publicirten Untersuchungen, wie in Folge der Leberentfernung der Organismus mit sauren Stoffwechselproducten überschwemmt wird [2]).

[1]) Ueber acute Phosphorvergiftung und acute Leberatrophie. Annal. d. Charité-Krankenhauses zu Berlin **15**, Jahrg. 1869.

[2]) Siehe folgende Mittheilung.

Ueber den Einfluss der Leberexstirpation auf den Stoffwechsel bei Hunden

von

S. Salaskin und **J. Zaleski.**

(Hierzu Tafel VII und VIII.)

Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 517. — Arbeit aus der chemischen und physiologischen Abtheilung des Instituts für experimentelle Medicin in St. Petersburg. — Der Redaction zugegangen am 19. Mai 1900.

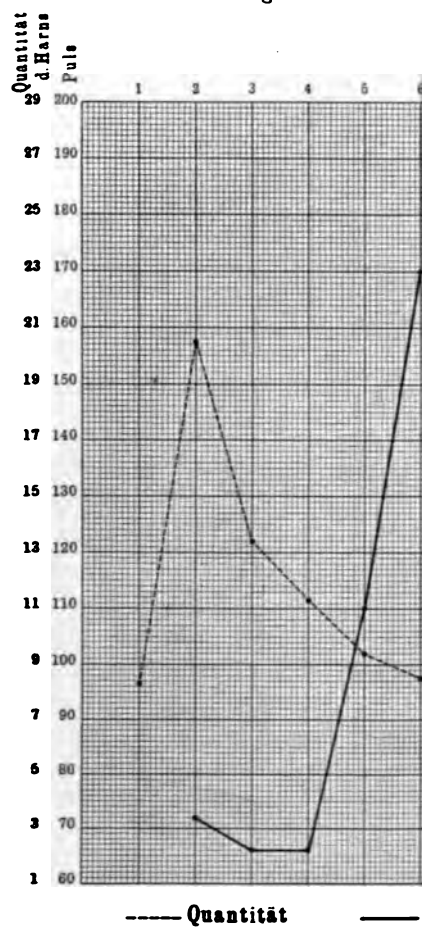
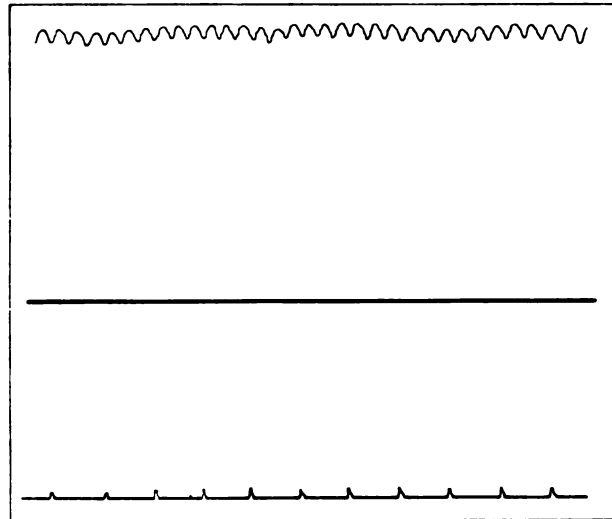
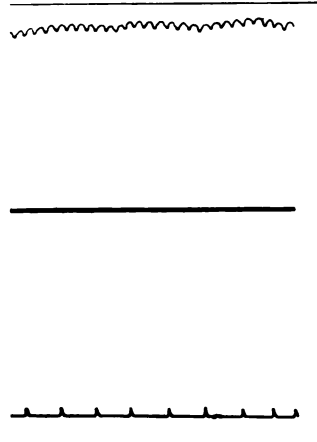
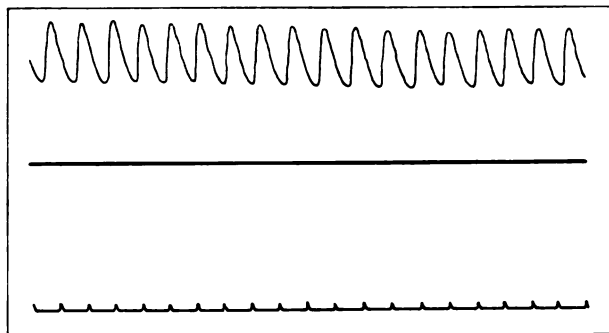
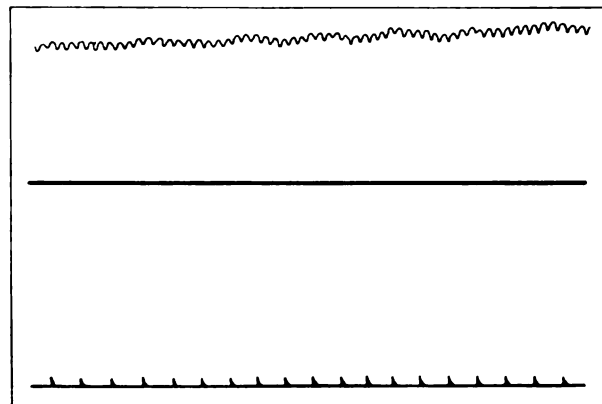
Bei der Inangriffnahme vorliegender Arbeit suchten wir das Leben der Hunde nach Entfernung der Leber eine möglichst lange Zeit zu erhalten. Sollte uns dies gelingen, so würde die Möglichkeit gegeben sein, einerseits die Betheiligung der Leber an der Bildung des Harnstoffs festzustellen, andererseits die Abweichungen im allgemeinen Stoffwechsel, welche als Folge des vollkommenen Schwundes der Leber auftreten, klar zu legen. Diese Aufgabe erschien uns nicht unerreichbar. Einige der Gänse von Minkowski lebten nach Entfernung der Leber bis 20 Stunden [1]). Der bei den Gänsen vorhandene natürliche collaterale Abfluss des Pfortaderblutes wird bei Hunden durch Anlegung einer Eck'schen Fistel — eine Operation, die an und für sich gut ertragen wird — ersetzt. Bereits in der ersten, die Anlegung der Eck-schen Fistel betreffenden Arbeit, welche in unseren Laboratorien von Nencki, Pawlow, Hahn und Massen [2]) ausgeführt worden war, waren Versuche angestellt worden, bei denen die Fistel entweder von einer Unterbindung der art. hepatica oder einer Leberexstirpation begleitet worden war; im letzteren Falle überlebten die Hunde die Operation zwei bis drei Stunden; in den günstigsten Fällen sogar sechs Stunden. In der folgenden von Nencki und Pawlow [3]) ausgeführten Arbeit wird unter Anderem über zwei Versuche berichtet, in denen die Eck'sche Fistel von einer Exstirpation der Leber gefolgt war. Die Hunde, welche vor der Operation reichlich Fleisch erhalten hatten, überlebten die Operation $3^1/_4$ resp. $4^1/_2$ Stunden. Wir können uns keinesfalls mit der Meinung einiger Autoren einverstanden erklären, dass nach Entfernung der Leber sofort der Tod des Thieres beginnt und dass es nicht möglich ist, die Erscheinungen der Agonie von den durch die Ausscheidung der Functionen der Leber bedingten zu trennen. Es genügt, auf den Versuch 2 der oben citirten Arbeit hinzuweisen, wo der Hund nach der Operation im Verlauf von $1^1/_2$ Stunden sich so weit wohl fühlte, dass er sogar herumging. Der Tod, welcher auf die Exstirpation der Leber folgt, ist demnach nicht die Folge eines grossen Trauma, sondern

[1]) Minkowski, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **21**, 41 (1886).

[2]) Hahn, Massen, Nencki, Pawlow, Arch. des sciences biolog. St. Pétersbourg **1**, 401 bis 497. — Dieser Band S. 290.

[3]) Nencki, Pawlow, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **38**, 215. — Dieser Band S. 561.

Fig. 1.

Quantität d. Harns
Puls
1
2
3
4
5
6
29
27
25
23
21
19
17
15
13
11
9
7
5
3
1
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
Quantität

ig. 3 (Curve Nr. 3).
Fig. 4 (Curve Nr. 4).
A.
Fig. 5 (Curve Nr. 6).
B.
Fig. 6 (Curve Nr. 8).

das Resultat einer Störung der normalen chemischen Umsetzungen. Die Voraussetzung war daher ganz natürlich, dass durch Herabsetzung des Stoffwechsels des einer Operation zu unterziehenden Thieres dessen Leben verlängert werden kann. Die Klarlegung des Charakters der in den chemischen Umwandlungen hervorgerufenen Störung konnte Handhabe für Maassregeln geben, welche den Zweck hätten, den Einfluss der Störungen in gewissem Maasse zu paralysiren. Wie aus den Versuchen ersichtlich sein wird, haben dieselben die Richtigkeit unserer Folgerungen bestätigt und der Hoffnung Raum gegeben, dass bei weiterer Ausarbeitung der Methode es möglich sein wird, die Hunde nach totaler Leberexstirpation noch längere Zeit hindurch am Leben zu erhalten. Wir zweifeln jetzt durchaus nicht an der Verwirklichung dieser Hoffnung und halten dieselbe nur für eine Frage der Zeit und der Beharrlichkeit. Da wir, wie oben erwähnt, eine grosse Bedeutung der Herabsetzung des Stoffwechsels beilegen, so bedienten wir uns zur Operation solcher Hunde, welche eine längere Zeit gehungert hatten. Die Dauer des Hungerns schwankte zwischen 3 und 11 Tagen.

Die Operationen wurden unter einer gemischten Morphium- und Chloroformnarkose vorgenommen. Die Narkose wurde, ungeachtet des langen Hungerns, von den Hunden gut ertragen. Der erste durch die Bauchwandungen geführte Schnitt war, wie bei Anlegung einer Eck'schen Fistel, ein Längsschnitt längs dem äusseren Rande m. recti abdominis, angefangen von den Rippen nach unten hin; derselbe wurde hier möglichst lang angelegt. Darauf wurde der zweite Schnitt ausgeführt vom oberen Ende des ersten unterhalb der unteren Ränder der linken Rippen. Auf diese Weise wird die Bauchhöhle breit eröffnet, was sehr wichtig für die Exstirpation der Leber ist. Nach Ausführung der Schnitte wurde in gewöhnlicher Weise eine Eck'sche Fistel angelegt, was unter diesen Bedingungen durchaus einfach ist. Nach Anlegung der Fistel und Unterbindung der v. portae an der gewöhnlichen Stelle wurde zur Entfernung der Leber geschritten, vermittelst Abpressung ihrer Lappen durch feste Ligaturen. Der Leberstumpf wurde nach Möglichkeit mit den Fingern zerdrückt. Darauf wurde eine Harnblasenfistel angelegt, in welche ein Glasrohr mit an beiden Enden abgebogenen Rändern eingebunden wurde, auf letzteres wurde ein Gummischlauch mit einem Quetschhahn aufgezogen. Der gesammte Harn wurde alsdann aus der Harnblase ausgepresst. Die Bauchwunde wurde in gewohnter Weise vernäht, durch diese Wunde wurde auch das in die Harnblase eingesetzte Glasrohr nach aussen geführt. Nach Beendigung der Operation wurden die Hunde in ein besonderes Zimmer gebracht, das vorher auf 20 bis 22° R. erwärmt worden war, auf einen Tisch gelegt und die ganze Zeit über mit erwärmten Decken bedeckt. Die operirten und auf diese Weise gelagerten Hunde wurden verhindert, sich aufzurichten oder zu bewegen, um nach Möglichkeit eine nachfolgende Blutung aus dem Leberstumpf zu vermeiden. Um die Harnabsonderung zu verstärken und auf diese Weise die Entfernung der Stoffwechselproducte aus dem Organismus zu fördern, führten wir in einigen Fällen den Hunden physiologische Kochsalzlösung ein, in einem Falle Harnstofflösung und in den letzten Versuchen Sodalösung. Die Flüssigkeit wurde entweder in den Mastdarm oder ins Blut oder subcutan eingeführt. Am zweckmässigsten erwies sich die subcutane Injection von Soda. Gleichfalls

zwecks Verstärkung der Harnabsonderung wurde den Hunden eine Stunde vor der Operation Wasser in den Magen eingegossen, in den letzten Versuchen Sodalösung. Die Anwendung von Soda, deren wir uns zum Schluss unserer Versuche bedienten, hatte den Zweck, nicht nur die Harnabsonderung zu verstärken, sondern auch die sauren Producte zu neutralisiren, welche sich nach der Leberexstirpation im Organismus anhäufen. Die Begründung dieses wird weiter unten gegeben werden.

Der Zustand der Hunde nach der Operation wurde die ganze Zeit über beobachtet. Es wurde die Reaction auf äussere Eindrücke registrirt, es wurde der Puls und die Athmung gezählt. In zwei Fällen wurde der Blutdruck gemessen. Alle halbe Stunde wurde der Harn entleert, seine Reaction, seine Menge und sein Aussehen bestimmt. Vor dem Tode wurde ein Aderlass vorgenommen, darauf die Section gemacht, wobei das Augenmerk hauptsächlich auf die Grösse der Fistelöffnung, die Blutmenge in der Bauchhöhle, den Zustand des Leberstumpfes gerichtet wurde; letzterer wurde ausgeschnitten und gewogen, desgleichen wurden nach sorgfältigem Abpräpariren auch die Theile des Lebergewebes gewogen, die hinter der Ligatur nachgeblieben waren. Da das Lebergewebe des Stumpfes bei der Operation stets sorgfältig mit den Fingern zerdrückt wurde und ausserdem durch Ligaturen abgetrennt war, so konnte dasselbe, gerechter Weise, für abgetödtet gehalten werden und sein Gewicht wurde zum Gewicht der bei der Operation entfernten Leber hinzugeschlagen; es konnten in Folge dessen nur die Theile thätig bleiben, welche hinter den Ligaturen gelegen waren. Bei einer derartigen Berechnung verblieb als thätiges Lebergewebe von 4.2 Proc. bis 8.7 Proc., im Durchschnitt etwa 6 Proc.

Eine unangenehme und leider in der Mehrzahl der Fälle bei den Sectionen constatirte Complication war die Nachblutung aus dem Leberstumpf. In einigen Fällen war die im Bauchraum gefundene Blutmenge eine recht beträchtliche.

Der nach Stunden gesammelte Harn wurde einer quantitativen Untersuchung auf N, Harnstoff und NH_3 unterzogen, soweit es die Menge gestattete, wurde auch eine qualitative Untersuchung vorgenommen. Ausserdem wurden noch das Blut und einige Organe auf den Gehalt an NH_3 untersucht. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl-Gunning bestimmt durch Verbrennung mit einem Gemisch von H_2SO_4 und K_2SO_4; NH_3 wurde nach dem Verfahren von Nencki und Zaleski, der Harnstoff nach Schöndorff und in einigen Fällen nach Sjöquist bestimmt. Als Indicator diente beim Titriren ein Gemisch von Lacmoid und Malachitgrün. Schwefelsäure wurde in $^1/_{10}$ Normallösungen, KOH in $^1/_{40}$ Normallösungen benutzt.

Im Ganzen haben wir 14 Hunde operirt; auf Grund unserer Beobachtungen sind wir zum Schluss gelangt, dass sich für diese Operation am besten die gewöhnlichen grossen Hofhunde eignen. Kleine Hunde, sowie Rassehunde eignen sich wenig dazu.

In den folgenden Protokollen werden die auf jeden operirten Hund im Einzelnen sich beziehenden Befunde angeführt. Vier von den 14 operirten Hunden gingen nach der Operation rasch zu Grunde, in Folge dessen sie in den Protokollen nicht erwähnt werden.

Hier sei noch bemerkt, dass sämmtliche Operationen von Prof. Pawlow in seinem Laboratorium ausgeführt worden sind, ausserdem nahmen an der Beurtheilung

der Fragen über die Anstellung der Versuche und der chemischen Untersuchung stets Prof. Nencki und Prof. Pawlow Theil, so dass vorliegende Arbeit das Resultat einer collectiven Thätigkeit der physiologischen und chemischen Abtheilungen des Instituts für experimentelle Medicin darstellt.

Protokolle.

Hund Nr. 1.

D. 27. Januar 1898. Einer Hündin von 14.43 kg Gewicht wurde am siebenten Tage vollständigen Hungerns die Eck'sche Fistel mit der darauf folgenden Exstirpation der Leber angelegt. Die Exstirpation wurde um 12 Uhr 50 Min. beendet. Gleich nach der Entfernung der Leber wurde der Harn aus der Harnblase ausgepresst. Quantität desselben = 25.5 ccm; Reaction schwach sauer, sein Aussehen leicht trübe. Der Hund, nachdem er sich etwas von der Operation erholt, fängt an, äussere Eindrücke zu empfangen, aber nur sehr schwach, überhaupt die ganze Zeit nach der Operation war sein Zustand ein sehr gedrückter. Der Puls war die ganze Zeit ein schneller. In verschiedenen Zwischenräumen und in Portionen von je 50 bis 150 ccm wurde physiologische Kochsalzlösung eingeführt. Unter dem Einflusse der ersten Injectionen wurde der Puls etwas besser. Um 3 Uhr wurden aus der Harnblase 12 ccm trüben Harns entleert; Reaction schwach alkalisch. Im Harn Spuren von Blut und Gallenfarbstoff. Am Ende der vierten Stunde leichte krampfhafte Zuckungen in den oberen Extremitäten. Ein sehr schneller Puls. Um 4 Uhr 50 Min. vollständiger Aderlass. Bei der Autopsie fanden wir in der Bauchhöhle 450 ccm Blut, die Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 282 g; Gewicht des Restes hinter den Ligaturen 21 g. Lebensdauer 3 Std. 45 Min.

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Gleich nach der Exstirpation der Leber	4.235	3.07
Nach 2 Std. 10 Min.	1.15	4.43

In 100 g Gehirn (Reaction alkalisch) NH_3 — 18.45 mg.

Hund Nr. 2.

3. Februar 1898. Einem männlichen Hunde, 19.26 kg schwer, wurde am fünften Tage des Hungerns die Eck'sche Fistel angelegt und darauf die Leber exstirpirt. Eine Stunde vor der Operation wurden in den Magen des Hundes mittelst Sonde 700 ccm Wasser eingeführt. Leberexstirpation um 12 Uhr 10 Min. beendet. Harnblase entleert. Puls normal. Respiration selten.

1. 1 Uhr 10 Min. Der Hund noch unter dem Einflusse der Narkose. Harn 8.5 ccm. Reaction schwach alkalisch.

2. 2 Uhr 10 Min. Der Hund fängt an, sich von der Narkose zu erholen. Harn 20.5 ccm. Reaction sauer. Puls 72. 10 Athemzüge in der Minute.

3. 2 Uhr 40 Min. Temp. in recto 35.2°. Puls 65. 10 Athemzüge in der Minute. 3 Uhr 10 Min. Harn 13.5 ccm. Reaction sauer.

4. 3 Uhr 35 Min. Voller Puls 65. Der Hund ist für äussere Eindrücke empfänglich. 4 Uhr 10 Min. Harn 11.3 ccm. Reaction stark sauer.

5. 5 Uhr. Puls 110. 5 Uhr 10 Min. Harn 9.5 ccm. Reaction stark sauer.

6. 5 Uhr, 50 Min. Per rectum 200 ccm Wasser eingeführt. 6 Uhr 10 Min. Harn 8.5 ccm. Reaction stark sauer. Der Hund empfindet Schmerzen. Puls 170. 6 Uhr 30 Min. Beim Drücken des Schwanzes winselt der Hund. Per rectum 200 ccm Wasser eingegossen.

7. 7 Uhr 10 Min. Harn 7 ccm. Reaction stark sauer. Puls 168.

8. 7 Uhr 25 Min. Per rectum 200 ccm Wasser eingeführt. 7 Uhr 40 Min. Harn 4.5 ccm. Reaction stark sauer. 7 Uhr 50 Min. Temp. in recto 37.5°. 8 Uhr. Allgemeine leichte Krampfzuckungen. Puls 196. 8 Uhr 10 Min. Unter die Haut 1 ccm 0.5 proc. Digitalinlösung injicirt (5 mg). Der Hund winselt vor Schmerz. Der Puls frequent, schwer zählbar, 208. Per rectum 200 ccm Wasser. Krämpfe in den Extremitäten. Der Hund stöhnt die ganze Zeit.

9. 8 Uhr 20 Min. Puls 152. Starke Krämpfe (klonische und tonische). 8 Uhr 25 Min. Tod. Lebensdauer 8 Std. 15 Min.

Autopsie. Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 337 g, des Restes hinter den Ligaturen 32 g (7.8 Proc.). Wasser eingeführt: In den Magen vor der Operation 700 ccm, per rectum 700 ccm. Der Hund hat Harn abgelassen: **1** Uhr 8.5 ccm; **2** Uhr 20.5 ccm; **3** Uhr 13.5 ccm; **4** Uhr 11.3 ccm; **5** Uhr 9.5 ccm; **6** Uhr 8.5 ccm; **7** Uhr 7.0 ccm; **8** Uhr 4.5 ccm; im Ganzen 83.3 ccm. In der ersten Stunde alkalische Reaction, von der zweiten Stunde an Reaction sauer. Von dieser Portion an zeigt sich ein Niederschlag, der in den folgenden Portionen zunimmt.

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$\overset{+}{N}(U)$ Proc.	$N(NH_3)$ Proc.	$\frac{\overset{+}{N}(U)}{N}$ Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Vor der Operation	4.37	2.91	0.12	66.5	2.75
In der zweiten, dritten und vierten Stunde	2.49	1.86	0.17	74.7	6.9
In der fünften und sechsten Stunde	2.29	1.65	0.274	75.52	12.0
In der siebenten und achten Stunde	1.36	0.68	0.255	50.0	18.75

Im Blut NH_3 in 100 g . . . . 2.75 mg
In Muskeln NH_3 in 100 g . . . . 18.3 „
Im Gehirn (Reaction schwach, aber deutlich alkalisch) . 18.2 „
(Siehe S. 776.)

Hund Nr. 5.

13. Februar 1898. Einem männlichen Hunde, von 21.13 kg Gewicht, wurde wie gewöhnlich Eck'sche Fistel nur mit dem Unterschied, dass die v. portae oberhalb der Mündung der v. pancreatico-duodenalis abgebunden war, angelegt.

Wir wollten die Operation in zwei Absätzen ausführen. Das Anlegen der Eck'schen Fistel mit der Abbindung der v. portae oberhalb der Mündung der

v. panc.-duod. bringt keine wichtigen Veränderungen im Blutkreislauf der v. portae, d. h. keine bedeutenden Störungen der Function der Leber hervor. Ein auf solche Weise operirter Hund unterscheidet sich kaum vom normalen. Folglich, es blieb abzuwarten, bis sich der Hund von der Operation erholt, um dann die Leber zu exstirpiren. Die Bauchwunde ist zugenäht und der auf diese Weise operirte Hund ist dem Hungern unterworfen. Wasser bekam der Hund ad libitum. Während der ganzen Zeit nach der Operation hatte der Hund starken Durst, die Quantität des täglich getrunkenen Wassers betrug 1 bis 1.5 Liter.

Am 18. Februar. Leberexstirpation. Gewicht des Hundes 19.5 kg. Vor der Operation wurden 700 ccm Wasser in den Magen eingeführt. Um 10 Uhr 50 Min. Exstirpation der Leber beendet. Ausser der gewöhnlichen, Fistel des Dünndarmes angelegt.

1. Um 11 Uhr 40 Min. Harn ausgelassen.

2. 12 Uhr. Der Zustand des Hundes ist ein deprimirter. Puls 140. Um 12 Uhr 30 Min. Durch die Darmfistel 100 ccm Wasser eingeführt. Um 12 Uhr 35 Min. Puls 140. Der Zustand ein gedrückter.

3. Um 1 Uhr. 120 ccm Wasser eingeführt. Um 1 Uhr 27 Min. Temp. in recto 37°. Um 1 Uhr 30 Min. 110 ccm Wasser eingeführt. Um 1 Uhr 45 Min. 1.4 ccm Harn, Reaction sauer.

4. Um 2 Uhr 110 ccm Wasser eingeführt. Temp. 37°. 0.4 ccm Harn, Reaction sauer. Puls 164. Unter die Haut 2.5 mg Digitalin. Um 2 Uhr 10 Min. Schmerzempfindung vorhanden. 2 Uhr 20 Min. 5 mg Digitalin unter die Haut. 2 Uhr 25 Min. Puls 164. Schmerzempfindung vorhanden.

5. 3 Uhr 30 Min. Krämpfe. 3 Uhr 45 Min. Puls 172. Krämpfe dauern fort. 4 Uhr 10 Min. Tod. Lebensdauer 5 Std. 20 Min.

Autopsie: Die Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 502 g. Rest der Leber hinter den Ligaturen 45 g (8.2 Proc.). Wasser eingeführt: In den Magen vor der Operation 700 ccm, in den Dünndarm 440 ccm. Harn erhalten 1.8 ccm.

Analyse:

Blut NH_3 in 100 g	4.61 mg
Gehirn NH_3 in 100 g	20.38 „
Muskeln NH_3 in 100 g	15.52 „

Hund Nr. 6.

Ein männlicher Hund hungert vom 19. Februar 1898. 23. Februar 500 ccm Wasser in den Magen eingeführt. Am 24. Februar, folglich am fünften Tage des Hungerns, das Anlegen der Eck'schen Fistel mit darauffolgender Exstirpation der Leber. Gewicht des Hundes 19.8 kg. Zwei Stunden vor der Operation 700 ccm Wasser in den Magen eingeführt. Leberexstirpation um 11 Uhr 40 Min. beendet. Aller Harn, wie gewöhnlich, aus der Harnblase entfernt. Puls nach der Operation ein voller, 93.

1. 12 Uhr 40 Min. Harn 4.5 ccm. Reaction sauer.

2. 1 Uhr. 200 ccm Wasser per rectum eingeführt. Puls 76 bis 80. Temp. in

recto 35° C. 1 Uhr 10 Min. Puls 66. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer. 1 Uhr 30 Min. Puls 72. 210 ccm per rectum. 1 Uhr 40 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer.

3. Per rectum 210 ccm Wasser. Puls 66 bis 72. 2 Uhr 10 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer. 2 Uhr 40 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer.

4. 3 Uhr 10 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer. 3 Uhr 40 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer. Per rectum 200 ccm Wasser. Temp. 35° C. Puls 78.

5. 4 Uhr. Beim Pfeifen erhebt der Hund den Kopf. 4 Uhr 10 Min. Harn 3.5 ccm. Reaction sauer. 4 Uhr 25 Min. Per rectum 110 ccm Wasser. 4 Uhr 40 Min. Harn 5 ccm. Reaction sauer. Puls 136. Comatöser Zustand.

6. 5 Uhr. Puls 150. Respiration 20. 5 Uhr 10 Min. Harn 4.5 ccm. Reaction sauer. 5 Uhr 40 Min. Harn 1.5 ccm. Reaction sauer.

7. 5 Uhr 50 Min. Per rectum 200 ccm Wasser. 5 Uhr 55 Min. Anfang der Krämpfe. 6 Uhr 25 Min. Harn 1.5 ccm. Reaction sauer. 6 Uhr 30 Min. Puls 180. Krämpfe dauern fort. 6 Uhr 40 Min. Per rectum 75 ccm Wasser. Puls 168.

8. 6 Uhr 55 Min. Schwache Krämpfe. Um 7 Uhr alles Blut ausgelassen.

Bei der Autopsie waren in der Bauchhöhle 185 ccm Blut. Die Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 315 g. Gewicht des hinter den Ligaturen gebliebenen Restes 32 g (7.6 Proc.), vor der Ligatur 73 g. Wasser in den Magen 205 ccm. Lebensdauer 7 Std. 20 Min. Vom Hunde Harn gewonnen: **1** Uhr 4.5 ccm; **2** Uhr 7 ccm; **3** Uhr 7 ccm; **4** Uhr 9 ccm; **5** Uhr 8.5 ccm; **6** Uhr 6.0 ccm; **7** Uhr 1.5 ccm. Im Ganzen 43.5 ccm saurer Reaction. Die ganze Quantität wurde zur qualitativen Analyse verwandt. (Siehe S. 776.)

Analyse:

Blut in 100 g	2.6 mg NH_3
Gehirn in 100 g	20.96 „ „
Muskeln in 100 g	19.69 „ „

Hund Nr. 8.

3. April 1898. Einem männlichen Hunde, 13.6 kg schwer, wurde am dritten Tage des Hungerns, nach Anlegung der Venenfistel, wie gewöhnlich, Leber exstirpirt. Um 11 Uhr 45 Min. die Leberexstirpation beendet.

1. 12 Uhr 35 Min. Voller Puls 118. 12 Uhr 40 Min. Per rectum 200 ccm Wasser. 12 Uhr 45 Min. Harn 7.2 ccm. Reaction sauer.

2. 12 Uhr 50 Min. Puls 110. Rhythmische epileptische Zuckungen der Hinterkopfmuskeln. 12 Uhr 55 Min. Puls 100. 1 Uhr 5 Min. Puls 96. 1 Uhr 15 Min. Per rectum 200 ccm Wasser. Puls 90. 1 Uhr 30 Min. Puls 92. 1 Uhr 45 Min. Harn 3.8 ccm. Per rectum 200 ccm Wasser.

3. 2 Uhr 20 Min. Per rectum 215 ccm. Puls 90. 2 Uhr 45 Min. Harn 3 ccm. In die v. femoralis wird langsam 100 ccm Wasser mit 5 g Harnstoff und 0.7 g Na Cl eingeführt.

4. 2 Uhr 53 Min. Puls 84. 3 Uhr 7 Min. Harn 6.0 ccm. 3 Uhr 30 Min. Aeusserst beschwertes Athmen. 3 Uhr 38 Min. Tracheotomie. Künstliche Respiration. 3 Uhr 45 Min. Harn 5.8 ccm.

5. 3 Uhr 50 Min. Krämpfe. Opisthotonus. Puls 48. 4 Uhr. Puls 74. 4 Uhr 12 Min. Harn 4.2 ccm. 4 Uhr 30 Min. Puls 184. Die ganze Zeit Tetanus. Harn 0.6 ccm.

6. 4 Uhr 55 Min. Puls 228. 5 Uhr 30 Min. Voller Aderlass.

Bei der Autopsie erwies sich die Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 537 g; Gewicht des Leberrestes vor den Ligaturen 55 g, hinter den Ligaturen 25 g (4.2 Proc.). Lebensdauer 5 Std. 45 Min. Harn gelassen: Um **1** Uhr 7.2 ccm; **2** Uhr 3.8 ccm; **3** Uhr 3.0 ccm; **4** Uhr 11.8 ccm; **5** Uhr 4.8 ccm; im Ganzen 30.6 ccm. Der Harn wurde zur qualitativen Analyse verwendet. (Siehe S. 777.)

Hund Nr. 9.

Am 16. März 1898 wurde die gleiche Operation an einem Hunde von 20.83 kg Gewicht, am siebenten Tage des Hungerns, ausgeführt. Eine Stunde vor der Operation 700 ccm Wasser in den Magen eingeführt. Die Leberexstirpation um 11 Uhr 55 Min. beendet.

1. 12 Uhr 55 Min. Harn 13 ccm. Reaction sauer.

2. 1 Uhr. Per rectum 150 ccm Wasser. 1 Uhr 20 Min. Puls 128 bis 136. 1 Uhr 25 Min. Harn 3 ccm. 1 Uhr 30 Min. Per rectum 150 ccm Wasser. Puls 128. Der Hund erhebt den Kopf, Empfindlichkeit vorhanden. 1 Uhr 55 Min. Harn 3 ccm. Temp. in recto 35.9°. Puls 132. Auf starkes Pfeifen erhebt der Hund den Kopf. Per rectum 150 ccm Wasser.

3. 2 Uhr 25 Min. Harn 3 ccm. Per rectum 150 ccm Wasser. 2 Uhr 55 Min. Harn 3 ccm. Reaction sauer.

4. 3 Uhr 25 Min. Harn 2.3 ccm. Reaction sauer. Der Zustand des Hundes ist comatös. Muskelzuckungen. 3 Uhr 55 Min. Harn 1 ccm. 4 Uhr 30 Min. Temp. in recto 38.7°. Da exitus zu befürchten war, um 4 Uhr 55 Min. voller Aderlass. Lebensdauer 5 Std.

Bei der Autopsie in der Bauchhöhle wurden 105 ccm Blut gefunden. Harnblase leer. Wasser im Magen 200 ccm, in den Gedärmen 360 ccm. Gewicht der exstirpirten Leber 470 g, Gewicht des Restes vor den Ligaturen 29 g, hinter den Ligaturen 24 g (4.8 Proc.). Harn vom Hunde gewonnen: **1** Uhr 13 ccm; **2** Uhr 6 ccm; **3** Uhr 6 ccm; **4** Uhr 3.3 ccm; im Ganzen 28.3 ccm.

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$\overset{+}{N}(\overset{+}{U})$ Proc.	N (NH_3) Proc.	$\frac{N(\overset{+}{U})}{N}$ Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Vor der Operation gewonnen	4.42	3.82	0.158	86.22	3.58
In der ersten Stunde	3.73	3.26	0.220	87.48	5.9
In der zweiten Stunde	4.02	3.16	—	78.48	—
In der dritten und vierten Stunde	3.74	2.75	0.190	73.52	5.09

Der Harnstoff wurde nach Sjöquist bestimmt.

Blut NH_3 in 100 g . . . . 1.98 mg
Gehirn NH_3 in 100 g . . . . 22.44 „
Muskeln NH_3 in 100 g . . . . 15.10 „

Hund Nr. 10.

18. März 1898. Ein Hund von 22.92 kg Gewicht wurde am achten Tage des Hungerns wie in den vorigen Versuchen operirt. Leberexstirpation um 12 Uhr 15 Min. beendet.

1. 12 Uhr 50 Min. Puls 84. 1 Uhr. Harn 9 ccm. 1 Uhr 15 Min. Harn 0.3 ccm. Per rectum 150 ccm Wasser.

2. 1 Uhr 20 Min. Puls 60. Schmerzgefühl. 1 Uhr 30 Min. Per rectum 150 ccm Wasser. 1 Uhr 45 Min. Harn 6 ccm. 2 Uhr. 80 ccm der physiologischen Lösung NaCl unter die Haut. Puls 60. 2 Uhr 15 Min. Harn 5.8 ccm.

3. 2 Uhr 30 Min. Puls 60. 2 Uhr 45 Min. Harn 4.6 ccm. Beim Pfeifen erhebt der Hund den Kopf. 2 Uhr 55 Min. 120 ccm physiologische Kochsalzlösung unter die Haut. 3 Uhr 15 Min. Harn 5.9 ccm. Puls 56.

4. 3 Uhr 55 Min. Harn 7.8 ccm. 4 Uhr 5 Min. 120 ccm physiologische Kochsalzlösung unter die Haut. 4 Uhr 15 Min. Puls 64. Harn 5.4 ccm.

5. 4 Uhr 45 Min. Harn 5.8 ccm. Temp. in recto 36°. Puls 88. 120 ccm physiologische Kochsalzlösung unter die Haut. 5 Uhr 15 Min. Harn 4.6 ccm. Puls 121. Temp. in recto 36.8°.

6. 5 Uhr 30 Min. Krämpfe. Puls 154. 5 Uhr 45 Min. Harn 3.8 ccm.

7. 6 Uhr 40 Min. Klonische Krämpfe. Puls 188 bis 200. 7 Uhr. Puls 172. Harn 7.2 ccm. Ungefähr um 7 Uhr hörten die Krämpfe fast gänzlich auf, es verschwand auch die früher gewesene reflectorische Erregbarkeit.

8. 7 Uhr 20 Min. Keine Krämpfe. Tiefe Respiration mit zeitweiligen Pausen. Temp. in recto 37.2°. 7 Uhr 35 Min. 80 ccm physiologische Lösung NaCl unter die Haut. Puls 198. Schmerzgefühl vorhanden. 7 Uhr 40 Min. Tonische Krämpfe in den Muskeln. 8 Uhr 15 Min. Tetanus. Lebensdauer acht Stunden.

Bei der Autopsie fand man in der Bauchhöhle 350 ccm Blut. Wasser im Magen 175 ccm. Die Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber betrug 492 g, vor den Ligaturen 21 g, hinter denselben 49 g (8.7 Proc.). Harn vom Hunde gewonnen: **1.** Stunde 9.3 ccm; **2.** Stunde 11.8 ccm; **3.** Stunde 10.5 ccm; **4.** Stunde 13.2 ccm; **5.** Stunde 10.4 ccm; **6.** Stunde 3.8 ccm; **7.** Stunde 7.2 ccm. Im Ganzen 66.2 ccm. Reaction sauer.

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$\overset{+}{N(U)}$ Proc.	$N(NH_3)$ Proc.	$\frac{\overset{+}{N(U)}}{N}$ Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Vor der Operation gewonnen . . .	0.957	0.835	0.0098	87.26	1.02
In der vierten Stunde	2.78	—	0.100	—	3.60
In der sechsten und siebenten Stunde	2.40	1.738	0.272	72.41	11.37

Blut NH_3 in 100 g . . . . 1.63 g
Gehirn NH_3 in 100 g . . . . 13.73 g.

Die Harnstoffbestimmung nach Sjöquist.

Hund Nr. 11.

28. April 1898. Einem männlichen Hunde von 24.30 kg Gewicht wurde am siebenten Tage des Hungerns, wie üblich, die Operation gemacht. Eine Stunde vor der Operation wurden dem Hunde 700 ccm Wasser in den Magen eingeführt. Zur Injection unter die Haut ist eine Lösung von 7.5 g NaCl und 2 g gebrannter Soda auf 1000 ccm Wasser bereitet. Die Leberexstirpation ist um 12 Uhr beendet.

1. 1 Uhr. Puls 72. Harn 2.2 ccm. 40 ccm Lösung unter die Haut.

2. 1 Uhr 30 Min. Puls 60. Harn 3.2 ccm. 40 ccm Lösung unter die Haut. Der Hund befindet sich noch unter dem Einflusse der Narkose, er rührt sich von Zeit zu Zeit, als ob er erwachen wolle. 2 Uhr. Respiration 16. Puls 66. Temp. in recto 34.9°. Harn 4 ccm. 40 ccm der oben erwähnten Lösung unter die Haut.

3. 2 Uhr 30 Min. Athmen 16. Puls 64. Temp. in recto 34.9°. Harn 3.8 ccm. 30 ccm Lösung unter die Haut. 2 Uhr 45 Min. Der Hund fängt an zu sich zu kommen, er erhebt sich. 3 Uhr. Harn 4.8 ccm. Puls 88. 40 ccm Lösung unter die Haut.

4. 3 Uhr 30 Min. Temp. in recto 34.9°. Puls 80. Athmen 18. 40 ccm Lösung unter die Haut. Harn 6 ccm. Der Hund versucht sich zu erheben. 4 Uhr. Temp. in recto 34.9°. Puls 96. Athmen 18. 35 ccm Lösung unter die Haut. Harn 5.3 ccm.

5. 4 Uhr 30 Min. 40 ccm Lösung unter die Haut. Harn 6.6 ccm. 5 Uhr. Puls 110. 40 ccm Lösung unter die Haut. Harn 6 ccm.

6. 5 Uhr 30 Min. Temp. 35.1°. Puls 160. Harn 5 ccm. 40 ccm Lösung unter die Haut.

7. 6 Uhr 30 Min. Harn 1.4 ccm. Puls 190. 30 ccm Lösung unter die Haut. Schmerzgefühl fehlt.

8. 7 Uhr 25 Min. Einzelne Zuckungen in den Extremitäten. Reflectorische Erregbarkeit erhöht. 7 Uhr 30 Min. 40 ccm Lösung unter die Haut. Die Krämpfe werden stärker. Trismus. 8 Uhr. Anhaltende klonische Krämpfe. 8 Uhr 30 Min. Dieselben Erscheinungen. 40 ccm Lösung unter die Haut.

9. 9 Uhr. Die Krämpfe werden stärker. Reflectorische Erregbarkeit ist sehr stark. 9 Uhr 30 Min. Temp. 35.9°. Tetanus. 9 Uhr 45 Min. In Erwartung des nahen Todes wurde das Thier durch Aderlass verblutet. Lebensdauer 9 Std. 45 Min.

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$\overset{+}{N}(\bar{U})$ Proc.	$N(NH_3)$ Proc.	$\frac{\overset{+}{N}(\bar{U})}{N}$ Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Gewonnen den 25. April	2.064	1.6856	—	81.66	—
Vor der Operation	2.581	2.173	0.1561	84.11	6.05
In der ersten, zweiten und dritten Stunde	1.505	0.110	0.1037	73.78	6.89
In der vierten Stunde	1.791	1.482	0.1078	82.74	6.02
In der fünften Stunde	1.546	1.249	0.1350	80.79	8.73
In der sechsten und siebenten Stunde	1.203	0.9056	0.1588	75.27	13.20

Blut NH_3 in 100 g . . . . 1.81 mg

Gehirn NH_3 in 100 g . . . . 18.42 mg.

Bei der Autopsie fanden sich 320 ccm Blut in der Bauchhöhle. 450 ccm Wasser im Magen. Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 494 g. Rest vor den Ligaturen 27 g, hinter denselben 26 g (4.7 Proc.). Subcutan wurden im Ganzen 1.25 g Na_2CO_3 injicirt. Harn vom Hunde gewonnen: **1.** Stunde 2.2 ccm; **2.** Stunde 7.2 ccm; **3.** Stunde 8.6 ccm; **4.** Stunde 11.3 ccm; **5.** Stunde 12.6 ccm; **6.** Stunde 9 ccm; **7.** Stunde 1.6 ccm. Im Ganzen 52.5 ccm.

Hund Nr. 12.

1. Mai 1898. Eine Hündin von 27.51 kg Gewicht wurde am zehnten Tage des Hungerns, wie in den vorigen Versuchen, operirt. Eine Stunde vor der Operation wurden 500 ccm Wasser mit 10 g Na_2CO_3 in den Magen eingeführt. Leberexstirpation um 12 Uhr beendet. Zur Injection unter die Haut wird eine Lösung aus 2.2 g gebrannter Soda und 7.5 g NaCl auf 1000 ccm Wasser bereitet.

1. Puls 78. Unter die Haut 40 ccm Kochsalzsodalösung. Harn 14.5 ccm. Reaction sauer.

2. 1 Uhr 30 Min. Puls 66. 40 ccm Kochsalzsodalösung unter die Haut. Harn 4 ccm. Reaction schwach, aber deutlich sauer. Temp. 34.3°. 2 Uhr. Harn 5 ccm. Puls 54. 80 ccm der Lösung unter die Haut.

3. 2 Uhr 25 Min. Kymographische Bestimmung des Blutdruckes in einem Ast der art. femoralis. Druck 81 ccm. 2 Uhr 30 Min. Puls 54. 80 ccm der Lösung unter die Haut. Harn 1.1 ccm. 3 Uhr. Puls 52. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Harn 9.1 ccm. Reaction sauer.

4. 3 Uhr 30 Min. Unter die Haut 40 ccm der Lösung (Sodagehalt in derselben bis auf 0.5 Proc. gebracht). Puls 50. Harn 6 ccm. Der Hund fühlt sich gut, versucht aufzustehen und den Tisch zu verlassen. 3 Uhr 50 Min. Bestimmung des Blutdruckes. Druck 96.8. 4 Uhr. Harn 6.4 ccm. Reaction alkalisch. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Temp. 35.2°. Selbstgefühl, wie vorher, gut.

5. 4 Uhr 30 Min. Harn 7.8 ccm. Reaction alkalisch. Puls 50. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Selbstgefühl wie früher. Beim Schlagen mit der Thür erhebt der Hund den Kopf. 5 Uhr. Harn 9.6 ccm. Reaction stark alkalisch. Puls 50. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Selbstgefühl gut.

6. 5 Uhr 30 Min. Harn 11.7 ccm. Reaction stark alkalisch. Puls 50. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Temp. 35.8°. 5 Uhr 45 Min. Bestimmung des Blutdruckes. Curve Nr. 3 (Tafel VIII). Druck 88. 6 Uhr. Harn 11.4 ccm. Reaction stark alkalisch. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Puls 60. Der Hund fühlt sich so wohl, dass er auf Liebkosung reagirt.

7. 6 Uhr 30 Min. Harn 9.5 ccm. Reaction schwach alkalisch. Puls 66. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Temp. 35.8°. 6 Uhr 45 Min. Puls 108. 7 Uhr. Harn 7.2 ccm. Puls 90. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Selbstgefühl des Hundes etwas schlechter. Er versucht nicht mehr sich aufzurichten, er erhebt von Zeit zu Zeit den Kopf, senkt ihn aber schnell wieder.

8. 7 Uhr 30 Min. Harn 5 ccm. Reaction schwach sauer. 80 ccm der Lösung unter die Haut. 8 Uhr. Harn 4.4 ccm. Reaction schwach sauer. 40 ccm

physiologischer Salzlösung unter die Haut. Puls 174. Bestimmung des Blutdruckes. Curve Nr. 4 (Tafel VIII). Druck 100.6.

9. Der Hund wird schwächer, versucht aber doch von Zeit zu Zeit sich auf die Vorderfüsse zu stellen. 8 Uhr 15 Min. Respiration 16. Temp. 36.5°. 8 Uhr 30 Min. Harn 2.8 ccm. Reaction schwach sauer. Unter die Haut 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Er hebt selbst den Kopf und hält ihn einige Zeit aufrecht. Während der Injection erhebt der Hund den Kopf und kehrt ihn nach der Seite des Schmerzes, dasselbe thut er, während die Injectionsstelle behufs schneller Resorption gerieben wird. 8 Uhr 50 Min. Bestimmung des Blutdruckes. Puls 210. Druck 83.6. 9 Uhr. Harn 2 ccm. Reaction schwach sauer. 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung unter die Haut. Bei der Injection unter die Haut erhebt er nicht den Kopf; erhebt man den Hund aber, so hält er ihn aufrecht und legt ihn sodann vorsichtig auf den Tisch.

10. 9 Uhr 30 Min. Respiration 18. Harn 1 ccm. Reaction schwach sauer. 40 ccm physiologischer NaCl-Lösung unter die Haut. Der Hund ist noch im Stande, den aufgehobenen Kopf aufrecht zu halten.

11. 10 Uhr 30 Min. Puls 184. 10 Uhr 45 Min. Leichte klonische Zuckungen. Bestimmung des Blutdruckes. Curve Nr. 6 (Tafel VIII). Erregung des N. vagus. 11 Uhr. Bestimmung des Blutdruckes. Puls 186. Druck 69.6.

12. 11 Uhr 10 Min. Tetanische Krämpfe in den vorderen Extremitäten. Reflectorische Erregbarkeit erhöht. 11 Uhr 15 Min. Temp. 36.2°. 11 Uhr 45 Min. Reflectorische Erregbarkeit sehr bedeutend. Tetanische Krämpfe. Bestimmung des Blutdruckes. Druck 53. Curve Nr. 8 (Tafel VIII). Puls 186.

13. 12 Uhr 15 Min. Tetanus. Bestimmung des Blutdruckes. Erregbarkeit des N. vagus. 12 Uhr 30 Min. Rare Respiration mit zeitweiligem Anhalten. Tetanische Krämpfe schwächer. Puls 164. 12 Uhr 45 Min. Puls 180 bis 192. Starker Opisthotonus. Tetanus. Häufige oberflächliche Respiration. Um 1 Uhr wird das Blut durch Aderlass entleert. **Lebensdauer 13 Stunden.**

Harnanalyse	Gesammt-N Proc.	$N(\overset{+}{U})$ Proc.	$N(NH_3)$ Proc.	$\frac{N(\overset{+}{U})}{N}$ Proc.	$\frac{N(NH_3)}{N}$ Proc.
Vor der Operation	2.558	2.272	0.091	88.82	3.56
In der ersten Stunde	2.370	—	—	—	—
In der zweiten und dritten Stunde	2.800	2.280	0.238	81.43	8.49
In der vierten Stunde	2.021	—	—	—	—
In der fünften und sechsten Stunde	1.252	1.014	0.085	80.97	6.79
In der siebenten Stunde	1.302	—	—	—	—
In der achten, neunten und zehnten Stunde	1.525	1.057	0.235	69.34	15.42

Blut NH_3 in 100 g . . . . . 1.48 mg
Gehirn NH_3 in 100 g . . . . . 0.71 mg
Muskeln NH_3 in 100 g . . . . . 14.50 mg.

(Siehe S. 777.)

Bei der Autopsie fanden wir in der Bauchhöhle 500 ccm Blut. Kein Wasser im Magen. Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 465 g. Rest vor den Ligaturen 22 g, hinter denselben 28 g (5.4 Proc.). In den Magen 10 g Na_2CO_3 eingeführt. Unter die Haut 2.6 g. Harn vom Hunde entnommen: In der **1.** Stunde 14.5 ccm; **2.** Stunde 9 ccm; Reaction sauer; **3.** Stunde 10.2 ccm; Reaction sauer; **4.** Stunde 12.4 ccm (in der ersten halben Stunde schwach sauer; in der zweiten alkalisch); **5.** Stunde 17.4 ccm; Reaction alkalisch; **6.** Stunde 23.1 ccm; Reaction alkalisch; **7.** Stunde 16.7 ccm (in der ersten halben Stunde schwach alkalische Reaction, in der zweiten neutral), **8.** Stunde 9.4 ccm, Reaction sauer, **9.** Stunde 4.8 ccm, Reaction sauer, **10.** Stunde 1 ccm, Reaction sauer. Im Ganzen 118.5 ccm.

Hund Nr. 13.

11. Mai 1898. Ein männlicher Hund von 28.96 kg Gewicht wurde am zehnten Tage des Hungerns wie gewöhnlich operirt. Vor der Operation waren 500 ccm Wasser mit 25 g Soda in den Magen eingeführt; beim Hunde stellte sich Erbrechen ein; dann waren noch 500 ccm Wasser mit 15 g Soda eingeführt. Exstirpation der Leber um 12 Uhr 30 Min. beendet.

1. 1 Uhr 30 Min. Harn 9 ccm. Reaction schwach sauer. Puls 88.

2. 2 Uhr. Puls 88. 40 ccm Lösung, 1 Proc. Na_2CO_3 und 0.75 Proc. NaCl enthaltend, unter die Haut injicirt. 2 Uhr 30 Min. Harn 2.8 ccm. Reaction neutral. 80 ccm Lösung unter die Haut. Puls 88.

3. 3 Uhr. Puls 94. 80 ccm Lösung unter die Haut. 5.2 ccm Harn. Reaction schwach alkalisch. 3 Uhr 30 Min. Puls 90 bis 96. 40 ccm unter die Haut. Kein Harn.

4. 4 Uhr. 80 ccm Lösung unter die Haut. Kein Harn. Während der ganzen Zeit nach der Operation befindet sich der Hund in comatösem Zustande. 4 Uhr 30 Min. 1.4 ccm Harn. Reaction schwach sauer. 80 ccm Lösung unter die Haut. Puls 100.

5. 5 Uhr 5 Min. Messung des Blutdruckes. Druck 107.6. Leichte Muskelzuckungen. 1.5 ccm Harn. Reaction sauer. 5 Uhr 30 Min. Kein Harn. Puls 120. Krampfhafte seltene Respiration wie beim Shock. Reflectorische Erregbarkeit nicht erhöht. 5 Uhr 45 Min. Tracheotomie. Künstliche Respiration. Krämpfe haben aufgehört.

6. 6 Uhr. Vollständiger Aderlass. Bei der Autopsie fand sich kein Blut in der Bauchhöhle; im Magen kein Wasser. Harnblase leer. Gewicht der exstirpirten Leber 427 g. Gewicht des Restes vor den Ligaturen 29 g, hinter denselben 22 g (4.6 Proc.). Lebensdauer 5 Std. 30 Min. 15 g Soda in den Magen eingeführt, unter die Haut 4 g.

Harnanalyse	Gesammt-N	$N(NH_3)$	$\frac{N(NH_3)}{N}$
	Proc.	Proc.	Proc.
Vor der Operation	3.291	0.172	5.22
In der dritten, vierten und fünften Stunde	1.391	0.241	17.30

Blut NH_3 in 100 g . . . . 1.8 mg
Gehirn NH_3 in 100 g . . . . 18.57 mg.

Hund Nr. 14.

22. Mai 1898. Ein männlicher Hund von 24.67 kg Gewicht wurde am elften Hungertage operirt. Eine Stunde vor der Operation wurden 500 ccm Wasser mit 10 g Soda in den Magen eingeführt. Vor der Operation, sowie nach derselben gewonnener Harn war alkalisch. Exstirpation der Leber um 12 Uhr 50 Min. beendet. Am Ende der Operation ein epileptiformer Anfall.

1. 1 Uhr 50 Min. 40 ccm Kochsalzsodalösung subcutan. Harn 9.5 ccm. Reaction sauer.

2. 2 Uhr. Epileptische Krämpfe ausschliesslich im Gebiete der Kopf- und Halsmuskeln. Schmerzgefühl bewahrt. 2 Uhr 5 Min. Die Krämpfe haben aufgehört. Puls 120. 2 Uhr 10 Min. Wieder ein ähnlicher epileptiformer Anfall wie früher. 2 Uhr 15 Min. Die Krämpfe haben aufgehört. Der Hund will vom Tisch aufstehen, man muss ihn mit Gewalt zurückhalten. 2 Uhr 20 Min. 3.4 ccm Harn. Reaction sauer. 40 ccm Lösung unter die Haut. 2 Uhr 28 Min. Heftiger epileptiformer Anfall mit leichtem Opisthotonus. 2 Uhr 35 Min. Der Anfall ist vorüber. Puls 140. 40 ccm Lösung unter die Haut. Harn 4.8 ccm. Reaction schwach sauer. Puls 130.

3. 3 Uhr 20 Min. 40 ccm der Lösung unter die Haut. Harn 4 ccm. Reaction sauer. Puls 130. Beim Pfeifen erhebt der Hund den Kopf. 3 Uhr 50 Min. Harn 0.8 ccm. Reaction schwach sauer. Puls 188 bis 190. 80 ccm der Lösung unter die Haut.

4. 4 Uhr 20 Min. 0.1 ccm Harn. 80 ccm Lösung unter die Haut. Beim Pfeifen erhebt der Hund den Kopf und stöhnt. Bei der Injection winselt der Hund vor Schmerz. 4 Uhr 50 Min. Kein Harn. Bei starkem Pfeifen erhebt der Hund den Kopf.

5. 5 Uhr. 80 ccm der Lösung unter die Haut. Der Hund wimmert vor Schmerz und bellt leise. 5 Uhr 50 Min. Beim Pfeifen öffnet er nur die Augen.

6. 6 Uhr. Seltene klonische Zuckungen in den vorderen Extremitäten. 6 Uhr 10 Min. Dieselben seltenen Zuckungen erscheinen auch in den Rumpfmuskeln. 6 Uhr 15 Min. Oefter sich wiederholende klonische Krämpfe. 6 Uhr 17 Min. Reflectorische Erregbarkeit erhöht. Krämpfe werden öfter. 6 Uhr 20 Min. Dieselben Erscheinungen, die mit der Zeit heftiger auftreten.

7. 6 Uhr 55 Min. Opisthotonus. Tetanus. 7 Uhr 5 Min. Vollständige Blutentleerung. Lebensdauer 6 Std. 15 Min.

Bei der Autopsie fanden wir in der Bauchhöhle 450 ccm Blut. Wasser im Magen 52 ccm, Reaction sauer. Harnblase leer. 10 g Na_2CO_3 in den Magen eingeführt, 2 g unter die Haut. Harn vom Hunde gewonnen: **1.** Stunde 9.5 ccm, Reaction sauer; **2.** Stunde 8.2 ccm, Reaction sauer; **3.** Stunde 4.8 ccm; **4.** Stunde 0.1 ccm, Reaction sauer. Im Ganzen 22.6 ccm.

Analyse:

Blut NH_3 in 100 g	2.05 Proc.
Gehirn NH_3 in 100 g	15.24 „
Muskeln NH_3 in 100 g	14.12 „
Die Schleimhaut des Magens	26.77 „

Qualitative Untersuchung des Harns.

Die verhältnissmässig geringen Mengen Harn, über welche wir für die qualitative Untersuchung verfügten, zwangen uns, uns auf das Wichtigste zu beschränken. Hier werden die Befunde angeführt, welche durch die qualitative Untersuchung des Harns von vier Hunden gewonnen wurden, die in den Protokollen unter den entsprechenden Nummern beschrieben worden sind. Was die allgemeinen Eigenschaften des Harns der operirten Hunde anbelangt, so wird von denselben weiter unten bei der allgemeinen Besprechung aller in den Protokollen dargelegten Befunde berichtet werden.

Hund Nr. 2 (conf. Protokoll S. 765).

Zur qualitativen Untersuchung wurden benutzt 25 ccm, welche nach Entnahme von Proben zwecks quantitativer Bestimmung nachgeblieben waren (22 ccm aus der Portion nach 2, 3 und 4 Stunden und 3 ccm aus der Portion nach 5 und 6 Stunden).

Die Untersuchung des mit Schwefelsäure angesäuerten Harns auf Gallenpigmente gab Spuren von Gallenfarbstoff. Die Anwesenheit von Urobilin war zweifellos erwiesen. Die Untersuchung des durch Aether extrahirten Harns auf Milchsäure gab ein negatives Resultat. Die übrig gebliebene Flüssigkeit wurde nach der Trennung vom Aether, welcher zur Extraction der etwa vorhandenen Milchsäure benutzt worden war, filtrirt, und mit basischem Bleiacetat gefällt, das Filtrat wurde nach Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff im Vacuum verdampft und der Rest mit Alkohol extrahirt. Das Alkoholextract wurde aufs Neue im Vacuum verdampft. Im trockenen Reste fanden sich Harnstoffkrystalle. Dieser Rest wurde mit einer geringen Menge Alkohol extrahirt; nach Zufügung von Aether zum genannten Extract bildet sich ein krystallinischer Niederschlag, der sich bei der Untersuchung als Kreatin mit unbedeutenden Spuren von Kreatinin erwies. Die erhaltenen Krystalle vom Habitus des Kreatins waren nicht vollkommen rein, so dass ihre Menge nicht genau bestimmt werden konnte. Das Rohproduct wog etwas über 0.03 g. Direct mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge gemischt, gab eine Probe der Krystalle sehr schwache Reaction auf Kreatinin. Es wurde daher, um alles Kreatin in Kreatinin überzuführen, die Gesammtmenge der Krystalle in wenig verdünnter Schwefelsäure gelöst und die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet. Mit einer Probe des erhaltenen Rückstandes erhielten wir jetzt sehr scharf die Weidel-Salkowski'sche Reaction auf Kreatinin. Aus dem anderen Theil des Präparates wurde Kreatininchlorzink und pikrinsaures Kreatinin krystallinisch dargestellt.

Der beim Stehen des Harns ausgefallene Niederschlag erwies sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Harnsäure und gab die Murexidreaction.

Hund Nr. 6 (conf. Protokoll S. 767).

Die gesammte Menge Harn von 43.5 ccm wird auf 24 Stunden bei 0° belassen. Der gebildete reichliche Niederschlag, welcher sich bei der Untersuchung als aus Uraten bestehend erweist, wird abfiltrirt und mit auf 0° abgekühltem Wasser ausgewaschen. Das Harnfiltrat wird beim Stehen dunkler (dunkel rothbraune Farbe) und giebt einen Absorptionsstreifen bei *D*; darauf wird die Farbe des Harns heller und

es erscheint in ihm eine schwache grünliche Fluorescenz. Das Filter mit dem Niederschlag wird mit durch H_2SO_4 schwach angesäuertem Chloroform extrahirt. Im Chloroformextract ist unzweifelhaft die Anwesenheit von Bilirubin erwiesen worden; die Reactionen auf Urobilin ergaben ein negatives Resultat. Nach Verdampfung des Chloroforms bleiben im Schälchen ölige Tropfen nach, die, auf Platinblech erhitzt, den Geruch nach verbranntem Fett verbreiten.

Der von den ausgefallenen Uraten abfiltrirte Harn und das zum Auswaschen benutzte Wasser wird auf dem Wasserbade bis auf ein Drittel des ursprünglichen Volumens eingeengt und hierauf im Vacuum bis zum Trocknen eingedampft. Der trockene Rest von braunrother Farbe wird mit Schwefelsäure schwach angesäuert und mit Chloroform extrahirt. Der Chloroformextract wird zur Trockne verdunstet, der Rest in Alkohol aufgelöst, alsdann so viel Wasser hinzugefügt, dass der Gehalt an Alkohol ca. 10 Proc. beträgt. Diese Lösung wird durch eine geringe Menge basisch-essigsauren Bleies und etwas Ammoniak gefällt. Der abfiltrirte Niederschlag wird mit Wasser ausgewaschen, bei mässiger Temperatur getrocknet und mit heissem absolutem Alkohol extrahirt und sofort abfiltrirt. Das Filtrat wird nach Zusatz von Na_2CO_3 bis zum Trocknen eingedampft. Der Rest wird in heissem Alkohol extrahirt und filtrirt. Das Filtrat beträgt ca. 2 ccm; demselben wird 1 Tropfen einer 0.1 proc. Lösung von Furfurol und 1 ccm concentrirter Schwefelsäure hinzugefügt; das Gemisch wird in Schnee gestellt. Es erscheint eine Rosafärbung, welche nach zwei Stunden einen violetten Ton annimmt. Bei der spectroskopischen Untersuchung ist ein Streifen vor *F* sichtbar. Es sind somit unzweifelhaft im Harne Gallensäuren vorhanden.

Harnstoff wurde in diesem Harn qualitativ durch alle Reactionen nachgewiesen.

Hund Nr. 8 (conf. Protokoll S. 768).

Im Harn wurde Bilirubin gefunden. Der Niederschlag erwies sich, wie auch in allen übrigen Fällen, als aus Uraten bestehend.

Hund Nr. 12 (conf. Protokoll S. 772).

Da hier grössere Harnmenge disponibel war, so prüften wir ihn auf etwaigen Gehalt an Milchsäure. Es wurde dazu der Harn von folgenden Stunden genommen: **2.** und **3.** Stunde 1.3 ccm, **4.** Stunde 9.5 ccm, **5.** und **6.** Stunde 21 ccm, **7.** Stunde 13.2 ccm, **8.**, **9.** und **10.** Stunde 3 ccm. Im Ganzen 48 ccm. Nach Entfernung der Urate durch Filtration wurde der Harn auf dem Wasserbade verdunstet, nach dem Erkalten mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert und mit Aether extrahirt. Der nach dem Verdunsten des Aetherextractes hinterbliebene syrupöse Rückstand, mit Zinkoxyd gekocht, gab uns die charakteristischen Krystalle des Zinklactates. Das lufttrockene Salz wog 0.1632 g. Nach dem Trocknen bis zum constanten Gewicht bei 110° C. verlor die Substanz an Wasser 0.0204 g (12.5 Proc.). ZnO wurde gefunden 0.0484 g, entsprechend 27.22 Proc. Zn.

		berechnet:	gefunden:
Für $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2\,H_2O$	H_2O	12.9 Proc.	12.5 Proc.
	ZnO	26.75 „	27.22 „

Es ist somit die Anwesenheit der activen Milchsäure im Harn dieses Hundes unzweifelhaft erwiesen. Da der Hund vor der Operation zehn Tage gehungert hatte, so wurde zur Controle der Harn eines normalen Hundes vom 12. Hungertage einer gleichen Bearbeitung unterworfen. Zur Untersuchung waren 200 ccm Harn genommen worden. Das Resultat war ein negatives.

Nach Entfernung der Milchsäure wurde der Harn auf Harnstoff verarbeitet und nach der Vorschrift von Lüdy[1]) in Orthonitrobenzylidendiureid verwandelt. Der Schmelzpunkt des isolirten Diureids lag, wie der des reinen Präparates, bei 200°.

Der aus dem Harn ausgefallene Niederschlag erwies sich bei der Prüfung mit der Murexidprobe und bei der mikroskopischen Untersuchung als Harnsäure.

Allgemeines Resultat der Protokollbefunde.

Die Lebensdauer der operirten Hunde schwankte, wenn die äussersten der in den Protokollen angeführten Zahlen in Betracht gezogen werden, zwischen 3 Stunden 45 Min. und 13 Stunden. Da jedoch die äussersten Ziffern keine genaue Vorstellung dieses wichtigen Momentes geben, so führen wir hier die Lebensstunden eines jeden Hundes im Einzelnen an, wobei wir dieselben in aufsteigender Reihenfolge anordnen: **3** Stunden **45** Min. (Nr. 1), **5** Stunden (Nr. 9), **5** Stunden **20** Min. (Nr. 5), **5** Stunden **30** Min. (Nr. 13), **5** Stunden **45** Min. (Nr. 8), **6** Stunden **15** Min. (Nr. 14), **7** Stunden **20** Min. (Nr. 6), **8** Stunden (Nr. 10), **8** Stunden **15** Min. (Nr. 2), **9** Stunden **45** Min. (Nr. 11), **13** Stunden (Nr. 12). Wir können nicht den Grund oder vielmehr die Gründe anführen für diese Verschiedenheit eines jeden einzelnen Falles, da dieselbe unzweifelhaft das Resultat sehr vieler und complicirter Factoren ist. Als günstige Bedingungen sind jedenfalls anzuführen: Das langdauernde vorhergehende Hungern, eine gute Harnabsonderung und die Einführung von Sodalösung in den Organismus des Hundes.

Damit die Erfolge dieser Operation keine zufälligen seien, sondern constante, ist es erforderlich, weitere, bisher unbekannte, jedoch wichtige Bedingungen festzustellen; dann kann unzweifelhaft das Leben der Thiere, denen die Leber entfernt worden ist, um ein Bedeutendes verlängert werden.

Der Zustand der Hunde nach der Operation weist einige Verschiedenheiten auf, giebt jedoch im Allgemeinen ein recht gleiches Bild der beobachteten Erscheinungen und kann in folgendem Schema verallgemeinert werden: Die erste Zeit nach der Operation befinden sich die Hunde noch unter dem Einflusse der Narkose, allmählich erholen sie sich von derselben und reagiren auf äussere Eindrücke. Der Grad dieser Reaction war nicht bei allen Hunden gleichmässig ausgeprägt. Einige reagirten die ganze Zeit über recht schwach auf äussere Eindrücke: Die Reaction beschränkte sich auf ein schwaches Emporheben des Kopfes, Wendungen der Augen oder Bewegungen der Ohren; andere wieder erhoben den Kopf, hielten denselben längere Zeit in dieser Lage, versuchten aufzustehen und würden sicher gegangen sein, was jedoch, wie bereits erwähnt, nicht zugelassen wurde. Der in den Proto-

[1]) Wiener Monatshefte f. Chem. **10**, 295. — Dieser Band S. 138.

kollen unter Nr. 12 beschriebene Hund fühlte sich in der 6. Stunde nach der Operation dermaassen gut, dass er wie ein normaler Hund auf Liebkosungen reagirte. Die angeführten Unterschiede beruhen, wie ersichtlich, nur in der Stärke der Reactionen und nicht im Charakter derselben. Nach einem derartigen, in einigen Fällen verhältnissmässig sehr guten Zustande fangen die Hunde an, die Schmerzempfindung zu verlieren, hören auf, auf äussere Eindrücke zu reagiren; es treten Krämpfe auf, die sich steigern und zuweilen in einem allgemeinen Tetanus endigen. Darauf erfolgt der Tod, wobei zunächst die Athmung sistirt und alsdann die Herzcontraction. Der Puls hält sich gewöhnlich die erste Zeit nach der Operation ungefähr auf 60 bis 80 in einer Minute, alsdann folgt eine Beschleunigung, welche schnell zunimmt; endlich wird der Puls schwer zählbar.

Der Blutdruck wurde bei zwei Hunden bestimmt. Bei einem von diesen (Nr. 12) wurde die Bestimmung, angefangen von der 3. Stunde nach der Operation, in verschiedenen Zwischenräumen vorgenommen. Wir geben hier einige der Curven (vgl. Tafel VIII, Fig. 3 bis 6). In der folgenden Tabelle sind die Befunde verzeichnet:

	3. Stunde	4. Stunde	6. Stunde	8. Stunde	9. Stunde	11. Stunde	12. Stunde
Puls	54	50	50	174	210	186	186
Blutdruck . . .	81	96.8	88	100.6	83.6	69.6	53
Curve	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 8

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich: Dass der Blutdruck erst gegen Ende des Lebens stark zu sinken beginnt, bis dahin sich jedoch auf einer gewissen Höhe erhält, dass Beschleunigung des Pulses beobachtet wurde, und dass eine Verringerung der Harnabsonderung vor dem Sinken des Blutdrucks eintritt. Dasselbe Verhalten wurde auch beim Hunde Nr. 13 constatirt: In der fünften Lebensstunde betrug der Blutdruck 107.6 mm, der Puls war 120, die Harnabsonderung sistirte fast vollkommen. Das Sinken des Blutdruckes beim Hunde Nr. 12, welches gegen Ende des Lebens beobachtet wurde, kann in gewissem Maasse in Abhängigkeit gesetzt werden von der inneren Blutung, da bei der Section des Hundes in der Bauchhöhle desselben nicht weniger als 500 ccm Blut vorgefunden wurden. Der Grund für das Sistiren der Harnabsonderung und die Beschleunigung des Pulses liegt also nicht im Blutdruck, er muss vielmehr in den den Organismus vergiftenden Producten gesucht werden, welche sich in ihm in Folge der Entfernung der Leber anhäufen. Wir bemerken hier, dass, um die Herzthätigkeit zu verlängern, wir beim Hunde Nr. 12, als die Pulsfrequenz in der Minute 190 bis 198 war, den N. vagus am Halstheile reizten. Beim Reizen des N. vagus fiel die Pulsfrequenz auf 54 (siehe Tafel VIII, Fig. 5, Curve Nr. 6, A vor, B nach der Reizung des N. vagus). Aus dem Sinken der Pulsfrequenz geht hervor, dass die beschleunigte Herzthätigkeit nicht die Folge einer vollkommenen Lähmung oder Schwächung des Vagus ist, denn ungeachtet der anhaltenden — 5 Minuten langen — Reizung war seine Wirkung nicht geschwächt.

Die **Athmung** war Anfangs regelmässig 10 bis 16 in der Minute, alsdann mit Beginn der Krämpfe, welche auch die Athmungsmuskeln ergriffen, unregelmässig.

Die Harnabsonderung nahm gewöhnlich in der ersten Zeit nach der Operation zu bis zu einem gewissen Moment und begann alsdann rasch zu sinken. Das Sistiren der Harnabsonderung fällt gewöhnlich mit der Beschleunigung des Pulses zusammen, ohne dass der Blutdruck sinkt. Die Gesammtmenge des Harns schwankte bei den einzelnen Hunden in ziemlich weiten Grenzen; in gewissem Grade stand sie in directer Beziehung zur Lebensdauer. Die Gesammtmenge des Harnes eines jeden Hundes im Einzelnen ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich:

Nr. des Hundes	Gesammtmenge des Harns	Lebensdauer
1	12	3 Stunden 45 Min.
2	83.3	8 „ 15 „
5	1.8	5 „ 20 „
6	43.5	7 „ 20 „
8	30.6	5 „ 45 „
9	28.3	5 Stunden
10	66.2	8 „
11	52.5	9 Stunden 45 Min.
12	118.5	13 Stunden
13	19.9	5 Stunden 30 Min.
14	22.6	6 „ 15 „

Das Sinken der Harnabsonderung erfolgt entweder relativ gleichmässig oder aber dieselbe bricht ziemlich plötzlich ab. Der Verlauf der Harnabsonderung nach Stunden ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich, welche als Beispiel angeführt werden mag:

	Hund Nr. 2	Puls	Hund Nr. 11	Puls	Hund Nr. 12	Puls	Blutdruck
1. Stunde	8.5	—	2.2	72	14.5	78	—
2. „	20.5	72	7.2	60—66	9.0	66—54	—
3. „	13.5	65	8.6	64—88	10.2	54—52	81
4. „	11.3	65	11.3	80—96	12.4	50	96.8
5. „	9.5	110	12.6	110	17.4	50	—
6. „	8.5	170	9.0	160	23.1	50—60	88
7. „	7.0	168	1.6	190	16.7	66—90	—
8. „	4.5	196	—	—	9.4	174	100.6
9. „	—	—	—	—	4.8	210	83.6
10. „	—	—	—	—	1.0	—	—

Aus den angeführten Curven (siehe Tafel VII, Fig. 1 u. 2) ist das Zusammenfallen des Sinkens der Harnabsonderung mit der Beschleunigung des Pulses klar ersichtlich. Wir enthalten uns zunächst irgend welcher Erklärung dieses Zusammenfallens und bemerken nur, dass die Constanz der beobachteten Erscheinung den Gedanken an die Allgemeinheit des denselben hervorrufenden Momentes erweckt.

Was die Eigenschaften des Harns der operirten Thiere anbelangt, so erleiden sie einige Veränderungen, sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht.

Der Harn, welcher vor der Operation die gewöhnliche Farbe und Durchsichtigkeit hatte, wird in fast allen Fällen, angefangen bereits von der ersten Stunde, dunkel gefärbt, in den folgenden Portionen nimmt die dunkle Färbung deutlich zu; gleichzeitig wird der in den ersten Stunden nach der Operation beim Entleeren aus der Harnblase klare Harn beim Stehen trübe, es scheidet sich ein gelbgefärbter, bisweilen sehr reichlicher Niederschlag ab. Der Harn aus den am weitesten vom Schlusse der Operation entfernten Stunden ist gewöhnlich bereits beim Entleeren trübe, bisweilen enthält er Gries. Die Trübung nimmt beim Stehen zu, es bildet sich am Boden des Gefässes ein reichlicher Niederschlag. Bei der mikroskopischen Untersuchung erweist sich der Niederschlag als aus Uraten und Harnsäurekrystallen bestehend, denen bisweilen auch Trippelphosphate in der charakteristischen Sargdeckelform beigemengt waren. Es muss noch hinzugefügt werden, dass bei der Section in den Schleimhautfalten der Harnblase sehr häufig Harnsäure in Form von häufig recht grobkörnigem Gries gefunden wurde. Die bei der qualitativen Untersuchung des Harns gefundenen Gallenpigmente und -säuren haben dieselbe Herkunft wie in den Versuchen von Naunyn und Minkowski[1]) in dem Harn der Vögel, denen die Leber entfernt worden war; sie stammen aus der Galle, die in dem Darme der operirten Thiere nachgeblieben und darauf resorbirt worden war.

Zucker und Eiweiss wurden im Harn nicht gefunden, abgesehen von den Spuren von Eiweiss, welche in zwei Fällen beobachtet wurden und die aus dem während der Anlegung der Fistelöffnung in die Harnblase gelangten Blute stammen. Das Eiweiss war nur in den ersten zwei Portionen vorhanden und verschwand in den folgenden vollkommen.

Die Reaction des Harns wurde in allen Fällen eine saure, selbst wenn dieselbe vor der Operation neutral oder alkalisch war. Eine gewisse Ausnahme stellen die Hunde dar, denen kohlensaures Natron eingeführt wurde, doch auch in diesen Fällen wurde die Reaction zum Schlusse eine saure. Aus 48 ccm Harn des Hundes Nr. 12 wurde Milchsäure in einer Menge von 0.1053 g erhalten. Bei Beurtheilung dieser Menge ist das verhältnissmässig geringe Harnvolumen, welches zur Untersuchung genommen wurde, in Betracht zu ziehen; ausserdem fällt von diesem Volumen ein gewisser Theil auf die ersten Stunden; aus den letzten Stunden, der 8., 9., und 10., wurden nur 3 ccm genommen.

Es fällt ausserdem der Umstand auf, dass aus 25 ccm Harn des Hundes Nr. 2 nicht weniger als 0.03 g Kreatin erhalten wurde, was bei dem geringen Volumen des gesammten Harns auf eine gewisse Verstärkung der Ausscheidung desselben hinweist.

Bei der quantitativen Untersuchung des Harns war beabsichtigt worden, die Veränderungen zu bestimmen, die in der Vertheilung des Gesammtharnstoffes zu dem N des Harnstoffes und dem des NH_3 auftreten. Die folgende Tab
die in dieser Hinsicht gefundenen Befunde hin.

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 21. [illegible] (1886).

Nr.	Vor der Operat.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8, 9, 10.	Bemerkungen
					2, 3, 4 St.		5 u. 6 St.		7 u. 8 St.	Die erste Zeile bei jedem Hunde bedeutet $\frac{\overset{+}{N}(U)}{N}$, die zweite $\frac{N(NH_3)}{N}$
2.	66.5	—	—	—	74.7	—	75.52	—	50.00	
	2.75	—	—	—	6.9	—	12.0	—	18.75	
					3 u. 4 St.					
9.	86.22	87.48	78.48	—	73.52	—	—	—	—	
	3.58	5.90	—	—	5.09	—	—	—	—	
								6 u. 7 St.		
10.	87.26	—	—	—	—	—	—	72.41	—	
	1.02	—	—	—	3.60	—	—	11.37	—	
				1, 2, 3 St.				6 u. 7 St.		
11.	84.11	—	—	73.78	82.74	80.79	—	75.27	—	
	6.05	—	—	6.89	6.02	8.73	—	13.20	—	
				2 u. 3 St.			5. u. 6 St.		8, 9, 10 St.	
12.	88.82	—	—	81.43	—	—	80.97	—	69.34	
	3.56	—	—	8.49	—	—	6.79	—	15.42	
13.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
						3, 4, 5 St.				
	5.22	—	—	—	—	17.3	—	—	—	

Wir sehen also, dass der Procentgehalt des N des Harnstoffs sinkt, während der des Ammoniak-N steigt; ein vollkommener Parallelismus findet jedoch zwischen beiden Erscheinungen nicht statt. Der Ammoniak-N weist eine unaufhaltsame und folgerichtige Tendenz zur Steigung auf; das Sinken des Harnstoff-N wird erst in den letzten Lebensstunden deutlich. In dieser Hinsicht ist ein wesentlicher Unterschied zwischen den Gänsen von Minkowski und unseren Hunden vorhanden, dort findet ein ziemlich jähes Sinken des Harnsäure-N statt; die Leber der Vögel spielt somit eine viel wesentlichere Rolle bei der Bildung der Harnsäure im Vergleich zu der Rolle, welche der Leber der Säugethiere an der Bildung des Harnstoffs zufällt.

In Betreff der Harnsäure haben wir zu bemerken, dass ihre Anwesenheit in allen Fällen nachgewiesen worden ist; da jedoch eine quantitative Bestimmung derselben nicht vorgenommen worden ist, so fehlen uns die Thatsachen zur Beurtheilung der Veränderungen in ihrer Ausscheidung. Von einer Vermehrung ihrer Bildung auf Grund ihres reichlichen Ausfallens zu reden, ist natürlich nicht möglich, da diese Erscheinung leicht durch eine einfache Veränderung der Löslichkeitsbedingungen erklärt werden kann.

Die Bestimmung des NH_3 im Blut und den Organen gab folgende Resultate:

	Nummer des Hundes									
	1.	2.	5.	6.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
NH_3 in 100 g Blut	—	2.75	4.61	2.6	1.98	1.63	1.81	1.48	1.8	2.05
Gehirn	18.45	18.20	20.38	20.96	22.44	13.73	18.42	9.71	18.57	15.24
Muskeln . . .	—	18.30	15.52	19.69	15.10	—	—	14.50	—	14.12
Lebensdauer .	3 St. 45	8 St. 15	5 St. 20	7 St. 20	5 St.	8 St.	9 St. 45	13 St.	5 St. 30	6 St. 15

Die aufmerksame Durchmusterung der angeführten Thatsachen führt zu dem äusserst wichtigen Schlusse, dass der Tod der Hunde unter Entwickelung sämmtlicher charakteristischen Erscheinungen eintreten kann ohne Vergrösserung des NH_3-Gehaltes im Blute und Gehirn. Sehr lehrreich ist in dieser Hinsicht der Hund Nr. 12, der 13 Stunden lebte und bei welchem der NH_3-Gehalt im Blute und Gehirn die Norm nicht überschritt.

Schlussfolgerungen.

Bei den Versuchen an Hunden mit exstirpirter Leber ist es im höchsten Grade interessant und lehrreich, dieselben den Befunden gegenüberzustellen, welche bei der Beobachtung von Hunden mit der Eck'schen Fistel allein erhoben worden sind. Bei Hunden, welche eine einfache uncomplicirte Venenfistel haben, treten vor Allem Erscheinungen einer **Ammoniak-** resp. **Carbaminsäurevergiftung** auf, welche sich sofort offenbart, sobald im Organismus die Bedingungen für die schnelle Production einer verhältnissmässig grossen Menge NH_3 eintreten. Die beobachtete Vergiftung ist hier das Resultat einer relativen Unzulänglichkeit der Leber im Umwandlungsprocesse des NH_3. Diese tritt auf nach reichlicher Fütterung mit Fleisch, wenn das Blut des Pfortadersystems angefüllt ist mit aus dem Magen-Darmcanal in Folge verstärkter Metamorphose in den Drüsenzellen herrührendem NH_3 [1]); sie wird desgleichen beobachtet bei hungernden Hunden bei Einführung von Ammoniaksalzen und Amidosäuren (Glycocoll), welche im Organismus bei Abwesenheit der Leber zu Ammoniakverbindungen oxydirt werden [2]), in den Magen der Thiere. Die Eck'sche Fistel hat somit unzweifelhaft die Bedeutung der Leber hinsichtlich des aus dem Magen-Darmcanal herrührenden NH_3 zur Evidenz klargelegt. Von diesem Gesichtspunkte aus erscheint das Bild der Vergiftung vollkommen klar; diese Seite der Leberthätigkeit tritt so anschaulich hervor, dass die Betheiligung besonderer, sich hinzugesellender Factoren an der gesammten Erscheinung nur untergeordnete Bedeutung haben kann. Der Zusammenhang zwischen der relativen Unthätigkeit der Leber und der Anhäufung von NH_3 ist hier ein directer, unmittelbarer. Es ist durchaus nicht möglich, zu behaupten, dass bei den Eck'schen Hunden das NH_3 sich in Folge Vermehrung des Säuregehalts im Organismus anhäuft: Die Reaction des Harns ist bei ihnen, mit geringen Ausnahmen, stark alkalisch. Die einfache Berechnung der NH_3-Mengen, die sich bei der Thätigkeit der Verdauungsdrüsen bilden, erklärt in vollkommen befriedigender Weise die beobachtete Anhäufung des NH_3, und folglich auch das Auftreten der durch dieselbe bedingten Vergiftung.

Die volle Exstirpation der Leber ruft complicirtere Störungen im Gange de[r] allgemeinen Functionen des Organismus hervor; hier fällt vollkommen die Th[ätigkeit] eines Organs aus, welches unzweifelhaft eine ungeheuere Bedeutung im allg[emeinen]

[1]) Vgl. Nencki, Pawlow, Zaleski, Archiv f. exper. Path. u. Phar[m.] — Dieser Band S. 525.

[2]) Vgl. Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**, 475 (1898). — I

Haushalte des gesammten Körpers hat. Es genügt, die Betheiligung der Leber an der Umwandlung der Kohlehydrate, ihre Rolle in der Ausscheidung der Gallenpigmente und Gallensäuren u. s. w. in Betracht zu ziehen. Bei der gewöhnlichen Eck'schen Fistel bleiben diese Functionen erhalten, es bleibt auch die innere Secretion erhalten. Es ist somit bei der Exstirpation der Leber weit schwieriger, sich in den beobachteten Erscheinungen zurechtzufinden. Unsere Hunde mit der exstirpirten Leber erinnern in vielen Beziehungen an die Gänse von Minkowski. Von allen Erscheinungen, die hier und dort beobachtet sind, muss an erster Stelle hervorgehoben werden: bei den Gänsen von Minkowski das Auftreten von Milchsäure im Harn, bei unseren Hunden die saure Reaction des Harns, welche sogar durch Einführung grosser Gaben Soda nicht abgeändert werden konnte; in einem Falle konnten wir sogar unzweifelhaft in dem Harne des Hundes (Versuch 12) die Anwesenheit von Milchsäure nachweisen. Die volle Exstirpation der Leber führt also zur Erhöhung des allgemeinen Säuregehaltes des Körpers, welcher sich in der Vermehrung des Säuregehaltes des Harns kundgiebt; es ist denkbar, dass die Vermehrung des NH_3 im Harne, sowie die Anhäufung desselben in einigen Fällen im Körper einen zweifachen Grund hat: 1. die Abwesenheit der Leber, welche das NH_3 umwandelt, und 2. die Vermehrung des Säuregehaltes. Letztere übt somit dieselbe Wirkung aus, wie die künstliche Einführung von Säuren. Es kann also hier ein Theil des NH_3 in gewisser Beziehung als der Säureindicator im Sinne von Münzer und Hallervorden[1]) angesehen werden, wenn angenommen wird, dass im Organismus, auch abgesehen von der Leber, wenn auch in beschränktem Maasse, eine Umwandlung des NH_3 möglich ist. Es kann somit hier von der Summirung der Wirksamkeit zweier Momente die Rede sein. Bei den Hunden mit exstirpirter Leber spielt das NH_3 im beobachteten Bilde der Vergiftung nicht eine bestimmende Rolle, wie es bei den Hunden mit einer einfachen Eck'schen Fistel der Fall ist, da in einigen Fällen die Menge des NH_3 im Blute und den Organen bei Vorhandensein aller Vergiftungserscheinungen normal gefunden wurde, was niemals bei erstmalig operirten Hunden mit einer Eck'schen Fistel vorkommt. Auf diese Weise kann die Vermehrung des NH_3 im Harne und zuweilen im Blute und Gehirne bei vollkommener Entfernung der Leber erklärt werden; diese Erklärung kann jedoch, wie oben erwähnt, niemals für die Fistel-Hunde mit Venenfistel angewandt werden; bei diesen ist das NH_3 nicht die Folge der Entwickelung eines vermehrten Säuregehaltes des Körpers, sondern das NH_3 überschwemmt zeitweilig den Körper in Folge vermehrter Production desselben; es ist der Ueberfluss des NH_3, den der Organismus in Folge der Unzulänglichkeit der Leber nicht bewältigen kann. Aus diesem Grunde können wir mit vollem Recht voraussetzen, dass bei der Eck'schen Fistel keine Verminderung des CO_2-Gehaltes im Blute vorkommen kann; bei den Hunden mit exstirpirter Leber wird diese Verminderung wahrscheinlich gefunden werden, wie sie von Walter[2]) bei künstlicher Säureeinfuhr gefunden wurde. Es ist vollkommen verständlich, dass durch Eingabe von Na_2CO_3 im Falle

[1]) Münzer, Prager medic. Wochenschr. 1897, Nr. 15 bis 19. Hallervorden, Archiv. f. exper. Path. u. Pharm. **12**, 237 (1880).

[2]) Walter, Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **7**, 148 (1877).

der Vermehrung des Säuregehaltes bei intacter Leber die NH_3-Menge im Harne verringert werden kann. Ist die Leber nicht vorhanden, so kann das Alkali nur die Bedeutung haben, das NH_3 aus seinen Verbindungen mit Säuren zu verdrängen und auf diese Weise die vollkommene Ausscheidung desselben im Harne zu begünstigen. In Betreff der im Organismus angehäuften sauren Producte können wir vorläufig nichts Bestimmtes aussagen, sind jedoch der Ansicht, dass dieselben saure Zwischenproducte des Eiweissstoffes mit relativ hohem Molekulargewichte sind. Diese Producte gehen wohl kaum in beträchtlicher Menge in den Harn über, wenn sie überhaupt übergehen. Die Frage, ob sie toxische directe oder indirecte — durch Bindung der Alkalien — Wirkungen ausüben, bleibt natürlich offen. In Anbetracht des Auftretens von Oxyproteinsäure in beträchtlicher Menge bei mit Phosphor vergifteten Hunden [1]) ist die Anhäufung von Producten ähnlicher Art denkbar. Zwecks Klarlegung dieser Fragen beabsichtigen wir, unsere Untersuchungen an Hunden mit exstirpirter Leber fortzuführen. Auf Grund des oben Angeführten kann die Aufgabe besser präcisirt werden; sie wird hauptsächlich in der Aufsuchung der sauren Producte, die sich im Organismus anhäufen, sowie in der Bestimmung der Basen und CO_2 im Blute bestehen.

Unsere Versuche bestätigen die Angabe von Nencki und Pawlow, dass nämlich der Harnstoff im Organismus auch ausserhalb der Leber gebildet wird. Wir wollen hier nur die Frage berühren, ob ausschliesslich in der Leber sich der Theil des Harnstoffes bildet, der speciell aus Ammoniak entsteht. Die Hunde mit einer einfachen Venenfistel zeigen, dass sie die Menge NH_3, welche bei ihnen als Resultat des allgemeinen Stoffwechsels auftritt, sowie des Stoffwechsels, welcher in den Verdauungsdrüsen vor sich geht, bei mässiger Thätigkeit derselben gut bewältigen können: unter diesen Bedingungen wird keine Anhäufung desselben im Blute, sowie keine besondere Vermehrung des Procentgehaltes an Ammoniak-Stickstoff im Harne beobachtet. Wenn sich jedoch die Thätigkeit der Verdauungsdrüsen steigert, oder in den Magen künstlich Ammoniaksalze eingeführt werden, so entwickelt sich das Bild einer Ammoniak- resp. Carbaminsäure-Vergiftung. Dieses Verhalten kann am einfachsten in dem Sinne erklärt werden, dass, bei Anwesenheit unbedeutender Mengen des im Organismus gebildeten NH_3, die Betheiligung der Leber an dessen Umwandlung genügt, welche Dank des Blutumlaufes der art. hepatica erfolgt; bei der Vermehrung des NH_3-Gehaltes und bei seiner gleichzeitigen Anhäufung macht sich die Abwesenheit des Pfortaderblutumlaufes bemerkbar; am nächsten liegt es folglich, anzunehmen, dass das NH_3 resp. Carbaminsäure entweder ausschliesslich oder vorwiegend durch die Leber in Harnstoff übergeführt wird, dass folglich in den übrigen Theilen des Organismus diese Umwandlung entweder gar nicht vor sich geht oder dass dieselbe eine sehr beschränkte ist. Die beschränkte Ueberführung des NH_3 in den Harn bei den Hunden mit Venenfistel durch den vermehrten Säuregehalt des Körpers zu erklären, ist nicht möglich, da derselbe bei ihnen, wie oben angegeben, nicht vorhanden ist.

Bei den Hunden mit Venenfistel wird das beobachtete Bild der Vergiftung

[1]) Bondzyński und Gottlieb, Centr. f. d. medic. Wissensch. 1897, Nr. 33, S. 577.

durch die Anhäufung von **Ammoniak** hervorgerufen, bei den Hunden mit exstirpirter Leber tritt vor Allem die **Säurevergiftung** hervor, oder genauer gesagt, durch die sich im Körper anhäufenden sauren Producte, die vielleicht ausser durch ihre saure Reaction noch durch ihre anderen Eigenschaften für den Organismus toxisch sind.

Das sind die allgemeinen Schlüsse, welche wir vorläufig auf Grund des vorhandenen Thatsachenmateriales zu machen für möglich halten. Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen, und weitere Versuche, die wir in dieser Richtung auszuführen beabsichtigen, müssen eine feste experimentelle Begründung der von uns ausgesprochenen Ansichten geben.

Ueber die Umikoff'sche Reaction der Frauenmilch

von

N. Sieber.

Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 101. — Arch. des sciences biolog. **8**, 360. — Nach dem Referate von Dr. E. Wein abgedruckt. Maly's Jahresber. **30**, 265.

In den Veröffentlichungen der Aerzte des Petersburger Findelhauses hat N. Umikoff eine Reaction zur Bestimmung des Alters der Frauenmilch mitgetheilt. Es werden 5 ccm Milch mit 2.5 ccm 10 proc. Ammoniaks 15 bis 20 Minuten lang auf 60° im Wasserbade erwärmt. Die Frauenmilch wird dabei violettröthlich gefärbt und zwar um so intensiver, je älter die Milch seit Beginn der Lactation ist. Kuhmilch verschiedenen Alters, in gleicher Weise behandelt, nimmt eine gelbe bis gelblichbraune Färbung an, so dass durch diese einfache Reaction Kuhmilch von der Frauenmilch sofort unterschieden werden kann. Verfasserin fand bei ihren Versuchen die Richtigkeit der Umikoff'schen Angaben bestätigt; Temperatur, Länge der Einwirkung und Concentration muss aber genau eingehalten werden, sonst wird die Färbung bräunlich. Zusatz von $NaCl$, Na_2CO_3, Na_2SO_4, Na_2HPO_4 und $(NH_4)_2SO_4$ stören die Reaction, Zusatz von 2 bis 3 Vol. Alkohol schwächt die Reaction ab, mehr Alkohol, dann Aether und Chloroform verhindern deren Eintritt. Milch, der verschiedene Säuren zugesetzt sind und die dann mit Ammoniak neutralisirt ist, färbt sich ebenfalls violettroth. Nach Ansicht Marchetti's ist es der Milchzucker, welcher die Umikoff'sche Reaction bedingt. Dieser ist aber nicht ausschlaggebend, sondern es ist die Citronensäure, welche für den Eintritt der Reaction von Bedeutung ist. Die Kuhmilch enthält nun allerdings ebenfalls Citronensäure; der Grund, warum in dieser die Reaction nicht eintritt, ist in dem verschiedenen Kalkgehalt der Kuh- und Frauenmilch zu suchen. Nach Bunge enthält die Kuhmilch in 100 Theilen Trockensubstanz 1.51 g Kalk, die Frauenmilch nur 0.24 g, enthält also nur ein Sechstel davon. Beim Erwärmen der Kuhmilch mit Ammoniak wird die Citronensäure als Kalksalz

ausgefällt. Die Kuhmilch, welche sechsmal mehr Kalk als die Frauenmilch enthält, enthält nur ein- bis dreimal mehr Citronensäure als dieselbe. Beim Erwärmen der Kuhmilch mit Ammoniak wird aus ihr alle Citronensäure als Calciumcitrat neben Calciumphosphat gefällt. In Frauenmilch dürfte beim geringen Gehalte an Kalk ein Theil der Citronensäure in Lösung bleiben. Die Dialysate der Kuhmilch geben die Reaction ebenfalls, weil sie kalkärmer sind, da ein wesentlicher Theil derselben beim Eiweiss als phosphorsaurer Kalk zurückbleibt, während die Citronensäure in das Dialysat übergeht. Die Umikoff'sche Reaction ist nicht bloss werthvoll für eine einfache Unterscheidung von Kuh- und Frauenmilch, sondern sie ist geeignet, die Frauenmilch in den ersten Lactationsmonaten von den späteren, vom vierten bis achten Monate ab gerechnet, zu diagnosticiren. Vom achten Monate ab ist die Reaction nicht mehr gleichmässig. Sie fällt bei manchen Individuen dann sehr stark, bei manchen nur schwach aus. Verf. untersuchte Frauenmilch von verschiedenen Lactationszeiten auf den Gehalt von Citronensäure und den übrigen Bestandtheilen mit folgendem Resultat:

Nr.	Zeit nach der Geburt Monate und Tage	Trockensubstanz Proc.	Eiweiss direct Proc.	Eiweiss n. Kjeldahl Proc.	Fett Proc.	Milch-Zucker Proc.	Citronensäure Proc.	Asche Proc.	In 100 g Asche Eisen Proc.	Umikoff'sche Reaction
1	9 T.	11.34	1.61	1.70	5.00	4.52	0.035 und 0.05	0.25	0.13	sehr schwach.
2	30 T.	12.08	0.90	1.30	4.91	5.50	0.048	0.24	0.14	desgleichen.
3	31 T.	12.00	0.96	1.22	5.10	5.60	0.036 und 0.04	0.21	0.15	etwas stärker.
4	35 T.	11.48	1.00	1.20	4.44	5.45	0.024	0.18	0.13	wie die vorige.
5	61 T.	10.81	0.69	0.87	4.58	4.65	0.026 und 0.04	0.15	0.17	etwas stärker als die vorige.
6	4 M. 16 T.	11.20	1.04	1.20	4.52	4.72	0.048	0.18	0.24	ziemlich starke Reaction.
7	6 M. 4 T.	11.50	0.79	0.98	5.50	5.00	0.066 und 0.045	0.14	0.24	sehr stark.
8	6 M. 13 T.	12.19	0.77	0.94	4.90	5.54	0.06 und 0.04	0.43	0.21	etwas schwächer als die vorige.
9	7 M. 8 T.	10.60	1.16	1.30	4.50	4.52	0.05	0.12	0.18	gleich wie die letzte.
10	8 M.	11.36	1.03	1.25	4.40	5.14	0.055	0.24	0.23	ein wenig schwächer als die letzte.
11	10 M.	11.50	0.70	0.88	4.44	5.92	0.07 und 0.04	0.19	0.20	ziemlich stark.
12	11 M.	12.40	0.70	0.95	4.90	6.54	0.03 und 0.05	0.17	0.12	schwache Färbung.
13	12 M.	12.01	0.90	0.98	3.26	7.60	0.04 und 0.045	0.20	0.18	ziemlich starke Färbung.

Ueber das Verhalten einiger künstlicher Hexosen im Thierkörper

von

A. Münch.

Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 493. — Inaug.-Dissert. Petersburg. — Nach dem Referate von Prof. J. Horbaczewski abgedruckt. Maly's Jahresber. **30**, 704.

Es wurde untersucht, in welchem Maasse die künstlichen Hexosen: Formose, Methose und das β-Methylglycosid, vom Organismus utilisirt werden, indem Versuchsthieren (meistens Kaninchen, seltener Hunden) die betreffende Substanz in bestimmten Mengen in die V. jugularis oder in die V. mesenterica oder per os eingeführt wurde, in den letzten zwei Fällen wurden die Versuche theils an gefütterten, theils an hungernden Thieren angestellt. Die in die V. jugularis des Kaninchens injicirte Formose erscheint zu 71.5 Proc. im unveränderten Zustande im Harne wieder; nach Injection derselben in die V. mesenterica gefütterter Kaninchen wurde eine zeitweilige Glycosurie beobachtet, wobei die Menge der ausgeschiedenen Glycose derjenigen der eingeführten Formose entsprach. Bei hungernden Kaninchen wurde unter gleichen Bedingungen keine Glycosurie beobachtet, es erschienen etwa 11 Proc. der eingeführten Formose im Harne. Bei Einführung der Formose in den Magen gefütterter Kaninchen erschienen im Harne 15.7 Proc., bei hungernden Thieren etwa 6.9 Proc. Ganz analoge mit Methose und Methylglycosid angestellte Versuche führten zu qualitativ denselben und nur quantitativ verschiedenen Erscheinungen, wie die folgende Zusammenstellung zeigt, der auch ein Glycoseversuch vergleichsweise beigefügt ist. Der im Harne gefundene Procentsatz des eingeführten Zuckers beträgt:

	d-Glycose [1]) Proc.	Formose Proc.	Methose Proc.	Methyl-Glycosid Proc.
Bei Einführung in die V. jugul.	73.3	71.5	60.3	24.0
Bei Einführung in die V. mesent. hungernder Thiere	—	11	12	0
Bei Einführung in die V. mesent. gefütterter Thiere	0	102 [2])	82.6 [2])	15.6 [2])
Bei Einführung in den Magen hungernder Thiere	—	15.7	7.8	4.7
Bei Einführung in den Magen gefütterter Thiere	—	6.9	3.7	0

Bei der Einführung in die V. jugul. erscheint im Harne in geringer Menge das Methylglycosid, offenbar weil dasselbe am raschesten, rascher sogar als Glycose

[1]) Berechnet nach den Angaben von E. Schöpfer, Nencki's Opera omnia **1**, 46.
[2]) Charakter des Zuckers: d-Glycose.

verbrennt, welchen Umstand Verf. durch die Anwesenheit der leichter oxydablen Methylgruppe erklärt. Diese leichtere Oxydirbarkeit des β-Methylglycosids tritt auch bei anderen Arten der Einführung zu Tage, indem von demselben entweder nichts oder der geringste Procentsatz im Harne erscheint. Das Auftreten von Glycosurie nach Einführung der Hexosen in die V. mesenterica gefütterter Kaninchen möchte Verf. als Ausdruck einer Reizung des Leberparenchyms erachten, im Gefolge deren ein verstärkter und sofortiger Uebergang des in der Leber abgelagerten Glycogens in Zucker und consecutive Glycämie stattfindet. — Es wurde ferner versucht, festzustellen, welche Bedeutung den erwähnten Hexosen bei der Glycogenbildung zukommt. Die Thiere hungerten drei bis sechs Tage, erhielten hierauf die betreffende Substanz, wurden dann getödtet, und es wurde in der Leber derselben das Glycogen (nach Brücke-Külz) quantitativ bestimmt, während zum Vergleich Bestimmungen des Glycogengehaltes der Leber von unter denselben Bedingungen gehaltenen Controlthieren ausgeführt wurden. Aus den erhaltenen Resultaten wird geschlossen, dass sämmtliche drei untersuchten Substanzen geeignet sind, als Material zur Glycogenbildung zu dienen. — Schliesslich wurde der Einfluss verschiedener Verdauungssäfte (Ptyalin, Pepsin, Pankreatin, Darmsaft), die von nach Pawlow operirten Hunden herrührten, auf die Hexosen geprüft, wobei jedoch keine Veränderungen beobachtet wurden.

Ein Beitrag zur Frage der Vererbung der künstlichen Immunität

von

S. Dzierzgowski.

Arch. des sciences biolog. **8**, 211. — Gazeta Lekarska (1900), Nr. 22. — Nach dem Referate von Prof. S. Bondzyński abgedruckt. Maly's Jahresber. **30**, 1041.

Alle Forscher, welche die Frage der Vererbung der künstlichen Immunität zum Gegenstande der Untersuchung gemacht haben, kamen übereinstimmend zu der Ansicht, dass die Immunität nicht vom Vater, sondern von der Mutter auf die Nachkommenschaft übertragen wird. Seine Versuche zur Forschung nach den näheren Ursachen dieser Erscheinung hatte der Verf. an Pferden angestellt. Die Prüfung der aus den Hoden der Pferde, welche behufs Darstellung des Diphtherieheilserums mit Diphtherietoxinen immunisirt waren, ausgepressten Samenflüssigkeit zeigte, dass die antitoxische Wirkung derselben zwischen 0.079 und 1.3 Behring-schen Einheiten schwankte, während die antitoxische Kraft des Blutserums von denselben Thieren sich 75 bis 280 Behring'schen Einheiten gleich ergab. Ebenso arm an Antitoxin war die Samenflüssigkeit, welche während des Coitus eines Hengstes in ein Condom aufgefangen wurde, sowie auch die Secrete der Cowper'schen Drüse und der Prostata. Die Flüssigkeit dagegen, welche aus den Graaf'schen Follikeln von ungefähr gleich immunisirten Stuten durch Auspressen gewonnen wurde, wies eine antitoxische Wirkung auf, welche derjenigen des Blutserums derselben Thiere

gleichkam. Ziemlich reich an Antitoxin war auch das Secret der Schleimhaut des Uterus der Versuchsthiere sowie die Flüssigkeit, welche aus dieser Schleimhaut durch Auspressen gewonnen wurde (Blutserum : Uterussecret wie 1.2 : 1, 1.69 : 1 und 1.4 : 1). Das Antitoxin wird also bei der Befruchtung hauptsächlich von der Mutter geliefert und zwar theils mit dem Ei resp. der Follikelflüssigkeit, theils durch das Secret der Uterusschleimhaut, von welchem sowohl das Ei, wie die Samenkörperchen vor der Befruchtung umspült werden. Ob der Embryo in der ersten Zeit seiner Entwickelung das Antitoxin vom Uterus zugeführt erhält, bleibt einer weiteren Untersuchung vorbehalten. Bei der weiteren Entwickelung der Frucht scheint die gebildete Placenta weder Antitoxin noch Toxine durchzulassen, denn durch die Immunisirung von Müttern (Stuten, Ziegen, Hündinnen) in den späteren Stadien der Trächtigkeit liess sich eine Immunität der Brut nicht erreichen.

Ueber die Einwirkung von Hydrazin auf die aromatischen Oxyketone

von

O. Prinz.

Inaug.-Dissert. Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. hat einige Verbindungen des Hydrazins mit aromatischen Oxyketonen, welche schon früher im Laboratorium von Prof. Nencki condensirt worden sind, dargestellt und eingehender studirt.

Oxyphenylmethylmethylenhydrazin, $C_6H_4OH.C(CH_3):N_2H_2$. Aequivalente Mengen von Hydrazin und p-Oxyacetophenon [1]), letzteres vorher mit ein wenig absolutem Alkohol vermischt, werden auf dem Wasserbade kurze Zeit erwärmt und nach vollendeter Einwirkung der entstandene Krystallbrei abfiltrirt und mit Alkohol und Aether gewaschen. Aus Alkohol krystallisirt die Substanz in farblosen Prismen, die bei 151 bis 152° schmelzen; ziemlich leicht löslich in heissem Alkohol, unlöslich in Aether. Bei der Einwirkung der Schwefelsäure, oder durch Kochen mit Wasser entsteht das Ketazin von der Zusammensetzung $C_6H_4OH.C(CH_3):N.N:C(CH_3)C_6H_4OH$; hellgelbe, durchsichtige Prismen; Schmelzp. 209 bis 210°; leicht löslich in Alkohol und Aether.

Dioxyphenylmethylmethylenhydrazin, $C_6H_3(OH)_2C(CH_3):N_2H_2$. Aus Resacetophenon [2]) und Hydrazin nach obigem Verfahren dargestellt; krystallisirt in farblosen Prismen, die sich bei 200° zersetzen, ohne zu schmelzen; leicht löslich in heissem Alkohol, sehr schwer löslich in Benzol, unlöslich in Aether. Durch Kochen mit Wasser oder mit Jod resp. Brom in alkoholischer Lösung geht der Körper in das entsprechende Ketazin über. Dunkelgelbe Krystalle; leicht löslich in Alkohol

[1]) Dieser Band S. 592.

[2]) Ebenda S. 356.

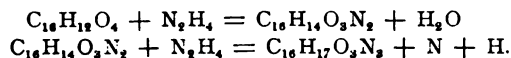
und Aether; zersetzen sich bei 200°. Dieses secundäre asymmetrische Hydrazin verbindet sich unter Austritt von Wasser mit Essigsäureanhydrid, Benzaldehyd und Aceton. Dabei entstehen gut krystallisirende und constante Verbindungen: Acetyldioxyphenylmethylmethylenhydrazin, $C_6H_3(OH)_2C(CH_3):N.NH(CH_3CO)$; farblose Prismen; Schmelzp. 196 bis 197°; löslich in Alkohol. Dioxyphenylmethylmethylenbenzalanin, $C_6H_3(OH)_2C(CH_3):N.NHC.C_6H_5$; gelbe Nadeln; Schmelzp. 160 bis 161°; leicht löslich in Alkohol und Aether. Dioxyphenyltrimethylazimethylen, $C_6H_3(OH)_2C(CH_3):N.N:C(CH_3)_2$; gelbe Prismen; Schmelzp. 99 bis 102°; leicht löslich in Alkohol und Aether.

Triphenylmethylmethylenhydrazin, $C_6H_2(OH)_3C(CH_3):N_2H_2$, entsteht auf analoge Weise aus Gallacetophenon [1]). Krystallisirt in gelben Nadeln, die sich über 180° zersetzen; schwer löslich in heissem Alkohol (1:50); fast unlöslich in heissem Benzol; unlöslich in Aether. Das Ketazin, $C_6H_2(OH)_3C(CH_3):N.N:C(CH_3)C_6H_2(OH)_3$, bildet kleine rothbraune Krystalle, die sich bei 180° langsam zersetzen; schwer löslich in Alkohol, unlöslich in Aether. Substituirte Hydrazine wurden wie oben dargestellt. $C_6H_2(OH)_3C(CH_3):N.NH(CH_3CO)$; farblose Prismen; Schmelzp. 184 bis 185°; schwer löslich in Alkohol. $C_6H_2(OH)_3C(CH_3):N.NHC.C_6H_5$; rothe Nadeln; Schmelzp. 185 bis 187°; leicht löslich in Alkohol und Aether. $C_6H_2(OH)_3.C(CH_3):N.N:C(CH_3)_2$; gelbe Prismen; Schmelzp. 166 bis 168°; leicht löslich in Alkohol und Aceton, schwer löslich in Alkohol.

Bei der Einwirkung des Hydrazins auf Trioxybenzophenon entsteht das Ammoniumsalz des Ketons; es bildet dunkelbraune Prismen; Schmelzp. 120°; leicht löslich in Alkohol.

Gechlorte Ketone gaben in einem Falle bei Chloracetobrenzcatechin das Salz des Hydrazins, in einem anderen bei Chlorgallacetophenon das Ammoniumsalz des Ketons.

Verf. hat auch die Einwirkung des Hydrazins auf Resaceteïn [2]) untersucht. Die Reaction geht beim Erwärmen der alkoholischen Lösung beider Substanzen im eingeschmolzenen Rohr. Dieses wird im Wasserbade so lange erhitzt, bis die anfängliche rothe Färbung der Lösung in eine bräunliche umschlägt. Die Reactionsflüssigkeit wird abgedampft, der Rückstand mit Aether extrahirt; beim langsamen Verdunsten des letzteren scheiden sich rothe Krystalle ab, deren Analysen der Formel $C_{16}H_{17}O_3N_3$ entsprechen. Folgende zwei Gleichungen verdeutlichen die einzelnen Phasen dieser Reaction:

$$C_{16}H_{12}O_4 + N_2H_4 = C_{16}H_{14}O_3N_2 + H_2O$$
$$C_{16}H_{14}O_3N_2 + N_2H_4 = C_{16}H_{17}O_3N_3 + N + H.$$

Nach den früheren Angaben von Rasiński [3]) enthält das Resaceteïn in seinem Molekül drei Hydroxylgruppen. Das vierte Sauerstoffatom sollte, aller Wahrscheinlichkeit nach, ein Ketonsauerstoff sein, weil es sich durch die $N.NH_2$-Gruppe ersetzen lässt. Man kann annehmen, dass auch dieselbe Structur dem Phenaceteïn und Orcaceteïn zukommt.

[1]) Dieser Band S. 357.
[2]) Nencki's Opera omnia 1, 589.
[3]) Ebenda 1, 678.

1901

Ueber die Reductionsproducte des Hämins durch Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid und über die Constitution des Hämins und seiner Derivate

von

M. Nencki und **J. Zaleski.**

Ber. **34**, 997. Eingegangen am 25. März. — Arch. des sciences biolog. **9**, 377. — Rozprawy Akademii Umiejętności w Krakowie **41**, 317.

Wie bekannt, haben Schunk und Marchlewski[1]) gefunden, dass durch Erhitzen verschiedener Derivate des Chlorophylls, namentlich aber des Phyllotaonins, mit Alkalien ein rother Farbstoff entsteht, den sie Phylloporphyrin nannten. Den Analysen dieser Autoren zufolge hat das Phylloporphyrin die Zusammensetzung $C_{16}H_{18}ON_2$, und ist dem Hämatoporphyrin, $C_{16}H_{18}O_3N_2$, von Nencki und Sieber nahe verwandt. Schunk und Marchlewski[2]) vermuthen, dass beide Substanzen vielleicht in einem Verhältnisse zu einander stehen, wie beispielsweise das Purpurin zum Oxyanthrachinon. In der That haben wir in einer vor Kurzem publicirten Arbeit gezeigt, dass das Hämatoporphyrin zwei durch Alkyle ersetzbare Wasserstoffe enthält und folglich als eine Dioxyverbindung des Phylloporphyrins aufgefasst werden kann[3]).

Die hohe Bedeutung, welche die genetische Verwandtschaft des Blatt- und des Blut-Farbstoffes in der Entwickelungsgeschichte organisirter Wesen hat, wurde von dem Einen von uns[4]) vor einigen Jahren in den Berichten der deutsch. chem. Gesellschaft auseinandergesetzt und wir erachten es als eine wichtige Aufgabe der physiologischen Chemie, die Ueberführung des einen der beiden Farbstoffe in den anderen, wodurch die nahe verwandtschaftliche Beziehung beider direct nachgewiesen wäre, zu bewerkstelligen.

---

[1]) Ann. d. Chem. **284**, 81 und **290**, 306.

[2]) l. c.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **30**, 428 (1900). — Dieser Band S. 757.

[4]) Diese Berichte **29**, 2877 (1896). — Dieser Band S. 573.

Um dieses Ziel zu erreichen, kann man zwei Wege einschlagen. Entweder wäre durch Oxydation des Phylloporphyrins sein Dioxyproduct darzustellen, oder umgekehrt durch Reduction des Hämatoporphyrins in Phylloporphyrin überzuführen.

Das Phylloporphyrin ist ein schwer zugänglicher Körper und seine Darstellung in einigermaassen grösseren Quantitäten kaum zu erschwingen. Viel leichter, wenn auch kostspielig, war die Darstellung des Hämatoporphyrins aus Hämin, und in der oben citirten Arbeit haben wir bereits über einige, die Reduction des Hämatoporphyrins bezweckende, erfolglose Versuche berichtet.

Im vorigen Herbst haben wir diese Untersuchungen wieder aufgenommen, wobei wir von der schon früher [1]) gemachten Beobachtung ausgingen, dass, wenn bei der Darstellung des Hämatoporphyrins statt bromwasserstoffhaltigen Eisessigs jodwasserstoffhaltiger angewendet wird, dann kein Hämatoporphyrin, sondern ein jodhaltiges amorphes Product entsteht. Zur Darstellung dieser jodhaltigen Substanz hat sich folgendes Verfahren als zweckmässig erwiesen:

Je 5 g Roh-Acethämin [2]) werden in einem trockenen Kolben mit 75 g Eisessig und 75 g Jodwasserstoff, spec. Gewicht 1.7, oder, was dasselbe ist, 45 ccm der Jodwasserstoffsäure auf dem Wasserbade unter häufigem Umrühren erwärmt. Das Hämin geht alsbald in Lösung über, und nach etwa 10 Minuten langem Erwärmen hat die Flüssigkeit die schön rothe Farbe des Hämatoporphyrins angenommen. Ist alles Hämin gelöst, so wird die klare Lösung mit viel Wasser versetzt, wobei die jodhaltige Substanz in amorphen, rothen Flocken ausfällt. Der Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, vollkommen mit Wasser ausgewaschen, auf Fliesspapier getrocknet und am besten durch Auflösen in heissem Methylalkohol gereinigt. Beim Erkalten der heiss filtrirten, methylalkoholischen Lösung scheidet sich dieses Product in rothen, amorphen Körnern aus. Diese jodhaltige Substanz enthält kein Eisen, ihre Lösungen zeigen die Farbe des Hämatoporphyrins und auch spectroskopisch haben sie die gleichen Absorptionsbänder. Krystallinische Verbindungen haben wir aus ihr nicht erhalten; dagegen fanden wir, dass, wenn sie von Neuem mit jodwasserstoffhaltigem Eisessig und unter Zusatz von Phosphoniumjodid auf dem Wasserbade erwärmt wird, sie in einen krystallinischen, jodfreien Körper übergeht, der mit Mineralsäuren krystallinische Salze giebt. Wir werden diesen Körper, weil er nach der Formel $C_{16}H_{18}O_2N_2$ zusammengesetzt ist und folglich in der Mitte zwischen dem Phylloporphyrin und dem Hämatoporphyrin steht, Mesoporphyrin nennen.

Viel vortheilhafter, als aus dem jodhaltigen Körper, wird das Mesoporphyrin nach folgendem Verfahren direct aus dem Hämin dargestellt.

Rauchende Jodwasserstoffsäure vom spec. Gewicht 1.96 wird mit Wasser, im Verhältniss von 3 Vol. Säure auf 1 Vol. Wasser, verdünnt. Das specifische Gewicht der dadurch resultirenden Säure ist = 1.74. Je 5 g des Roh-Acethämins werden mit 40 ccm solcher Säure und 75 ccm Eisessig auf dem Wasserbade unter häufigem

[1]) M. Nencki u. N. Sieber, Wiener Monatshefte f. Chem. **9**, 115 (1888). — Dieser Band S. 74.

[2]) Vergl. Zeitschrift f. physiol. Chem. **30**, 391 (1900). — Dieser Band S. 732.

ehärtete Filter theilweise durch. Das abfiltrirte und mit Alkohol gewaschene Krystallpulver ergab nach dem Trocknen im Vacuum folgende Zahlen:

0.1497 g Substanz: 0.3921 g CO_2, 0.0916 g H_2O. — 0.2284 g Substanz: 20.4 ccm N (15.5°, 765 mm)

und ein Präparat von einer anderen Darstellung:

0.1050 g Substanz: 0.5092 g CO_2, 0.1165 g H_2O. — 0.2161 g Substanz: 18.8 ccm N (17°, 757 mm)

$C_{16}H_{18}O_2N_2$. Ber. C 71.11, H 6.66, N 10.37
Gef. C 71.43, 70.89, H 6.79, 6.61, N 10.54, 10.03.

Das Mesoporphyrin ist in seinen Eigenschaften dem Hämatoporphyrin sehr ähnlich. Im Capillarröhrchen schmilzt es über 340° nicht. In Wasser ist es unlöslich und nur wenig löslich in Alkohol und Aether; leicht löslich ist es in Alkalien; weniger, jedoch erheblich mehr als in Alkohol, in verdünnten Mineralsäuren, doch nimmt in Salzsäure mit zunehmendem Säuregehalt die Löslichkeit beträchtlich ab. Die alkalischen Lösungen haben braunrothe Farbe, die sauren sind ähnlich wie die Hämatoporphyrinlösungen schön roth, doch zeigen sie im durchfallenden Lichte mehr amethystviolette Nuance mit rother Fluorescenz. Auch die Krystalle des salzsauren Salzes sind dem salzsauren Hämatoporphyrin sehr ähnlich, nur sind sie kleiner; selbst beim langsamen Krystallisiren haben wir nie längere, biegsame Nadeln wie vom salzsauren Hämatoporphyrin erhalten.

Wie die Krystalle des salzsauren Hämatoporphyrins, werden auch die des Mesoporphyrins durch Wasser zersetzt. Wird die alkoholische Lösung des salzsauren Salzes mit verdünnter, alkoholischer Lösung von Natrium-, Kalium- oder Ammoniumacetat versetzt, so werden etwas grössere Krystalle, anscheinend des freien Mesoporphyrins, erhalten; wenigstens gaben die mit Ammoniumacetat erhaltenen Krystalle Zahlen, welche der Formel des freien Mesoporphyrins entsprechen. Bei sehr langsamem Krystallisiren einer so bereiteten alkoholischen Lösung erhielten wir grössere, rothe, rhombische Krystalle, die in ihrer Form und Farbe lebhaft an die Hämatoidinkrystalle, wie sie in den Blutextravasaten gefunden werden, erinnerten. Zink-, Kupfer-, Blei- und Silberacetat geben mit der sauren Lösung des Mesoporphyrins rothe, amorphe, in Wasser und Alkohol unlösliche Niederschläge.

Spectroskopisch ist das Mesoporphyrin vom Hämatoporphyrin sowohl in neutraler, wie alkalischer oder saurer Lösung nicht zu unterscheiden. Die Absorptionsbänder resp. ihre Wellenlänge sind bei beiden Farbstoffen identisch.

Allem Anscheine nach ist das Mesoporphyrin bedeutend reactionsfähiger als das Hämatoporphyrin. Mit verdünnter Salpetersäure entsteht damit zuerst eine krystallinische Verbindung, vermuthlich das salpetersaure Salz. Beim langsamen Verdunsten der salpetersauren Lösung entstehen roth gefärbte Krystalle von ganz anderer Form, offenbar schon ein Oxydationsproduct des Mesoporphyrins. Die rothe Lösung des salzsauren Mesoporphyrins wird durch Zusatz von starker Salpetersäure grün. Wir haben den grünen Farbstoff zu isoliren gesucht und gefunden, dass er am besten durch Oxydation der salzsauren Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd erhalten wird. Zu einer klaren, salzsauren Lösung des Mesoporphyrins wird in kleinen Portionen

eine Mischung von 100 ccm Salzsäure, spec. Gewicht 1.19, mit 4 ccm 2 proc. Wasserstoffsuperoxydlösung unter Umrühren zugesetzt. Die schön rothe Lösung wird dadurch Anfangs dunkel purpurviolett, später dunkelgrün. Man unterbricht den Zusatz der Oxydationslösung, sobald die Flüssigkeit in dünner Schicht nur noch schwach röthliche Nuance zeigt. Beim ruhigen Stehen beginnt alsbald die Abscheidung dunkelgrün gefärbter, mikroskopischer Krystallnadeln. Ein Ueberschuss von Wasserstoffsuperoxyd oder Erwärmen hat zur Folge, dass den Krystallen auch amorphe, mehr gelbliche Flocken beigemischt sind. Die nach 24 stündigem Stehen abfiltrirten, mit 3 proc. Salzsäure nachgewaschenen und im Vacuum über Schwefelsäure und Natronhydrat getrockneten Krystalle ergaben mit der Formel $C_{16}H_{18}O_3N_2Cl_2$ ziemlich übereinstimmende Zahlen. In Alkalien sind die Krystalle leicht löslich, doch wird daraus durch Säuren nur ein amorpher, grüner Farbstoff abgeschieden. Uebrigens werden die Krystalle schon durch Waschen mit Wasser zersetzt. Dem Anscheine nach ist dieser Körper das salzsaure Salz des Monochlorhämatoporphyrins, $C_{16}H_{17}ClO_3N_2.HCl$. Wir haben bis jetzt nur eine einzige Analyse der unter dem Mikroskope nicht absolut reinen Krystalle ausgeführt und werden daher erst später genauere Angaben über Zusammensetzung und Eigenschaften dieses grünen Farbstoffes machen können. Besonderes Interesse werden die Versuche haben, welche die Entfernung von einem Sauerstoffatom aus dem Mesoporphyrin bezwecken. Wir hoffen, dass, nachdem der halbe Schritt zur Darstellung des Phylloporphyrins geschehen, uns auch die Entziehung dieses Sauerstoffs gelingen wird.

Wir möchten noch bemerken, dass, statt aus dem Rohproduct zuerst das salzsaure Salz darzustellen, man auch umgekehrt, und zwar mit Vortheil, zuerst das freie Mesoporphyrin und daraus das salzsaure Salz bereiten kann. Zu dem Zwecke wird das gut ausgewaschene Rohproduct in verdünnter Natronlauge gelöst und das Filtrat mit Essigsäure gefällt. Der durch Waschen mit Wasser von der Essigsäure befreite voluminöse Niederschlag wird zwischen Fliesspapier abgepresst und noch feucht mit 96 proc. Alkohol auf dem Wasserbade erwärmt. Der nach dem Erkalten abgeschiedene körnige Niederschlag ist zwar amorph, giebt aber mit viel Wasser aufgekocht und nach Zusatz von Salzsäure heiss filtrirt ein viel reineres, salzsaures Salz, aus welchem dann nach der oben gegebenen Vorschrift das freie Mesoporphyrin krystallinisch erhalten wird.

Die Ausbeute an Mesoporphyrin ist nicht gross. Selbst bei gut gelungener Operation haben wir nicht mehr als 20 Proc. vom Gewichte des angewandten Hämins erhalten. Stets entsteht dabei in wechselnder Menge ein rothbraunes amorphes Product. Bei zu kurzem Erwärmen oder geringerem Zusatz von PH_4J wird ausserdem die in erster Phase entstehende jodhaltige Verbindung erhalten. Längeres Erwärmen oder grösserer Zusatz von PH_4J hat die Bildung eines mit Wasserdämpfen flüchtigen, sauerstofffreien Körpers zur Folge, auf den wir gleich zurückkommen werden. Von grosser Bedeutung ist dabei die Concentration des verwendeten Jodwasserstoffs. Schon die käufliche Säure vom spec. Gew. 1.7 giebt immer eine schlechtere Ausbeute an Mesoporphyrin. Bei Anwendung rauchender Jodwasserstoffsäure vom spec. Gew. 1.96 ist der eben erwähnte, flüchtige Körper das einzige Reductionsproduct des Hämins. Bei wiederholten Versuchen, in welchen wir

das relative Verhältniss von Hämin, Eisessig, JH und PH_4J variirten, hat uns folgendes Verfahren die günstigste Ausbeute von dem flüchtigen Producte gegeben.

5 g Acethämin, 100 g Eisessig und 100 g Jodwasserstoffsäure, spec. Gew. 1.96, werden auf dem Wasserbade erwärmt; sobald ein Theil des Hämins in Lösung gegangen ist, werden allmählich, in kleinen Stückchen, 8 bis 9 g PH_4J unter stetigem Umrühren eingetragen. Die Flüssigkeit nimmt von Anfang an nicht die schön rothe Färbung des Mesoporphyrins, sondern eine bräunliche Nuance an, die gegen Ende der Operation gelblich wird. Nach etwa einhalbstündigem Erwärmen wird die Flüssigkeit mit dem vier- bis fünffachen Volumen Wasser versetzt, wobei die Lösung nur schwach gelblich gefärbt und ganz klar bleibt. Sie wird jetzt in einen mit Kühler und kleinem Scheidetrichter versehenen Kolben gebracht. Durch den Scheidetrichter lässt man die berechnete Menge Natronlauge, um allen Jodwasserstoff und den grössten Theil der Essigsäure zu binden, hinzufliessen, schliesst den Scheidetrichter ab und erhitzt zum Kochen. In den ersten Portionen des Destillates ist die flüchtige Substanz als ein farbloses, auf dem Wasser schwimmendes Oel, von eigenthümlichem, gleichzeitig an Skatol und Naphtalin erinnerndem, aber nicht lange anhaftendem Geruch enthalten. Leider verändert sich dieser Körper an der Luft so rasch, dass bei den kleinen Quantitäten des verarbeiteten Hämins wir bis jetzt nicht in der Lage waren, grössere Mengen davon darzustellen und die Substanz als solche zu analysiren. Dagegen ist es uns gelungen, durch die Darstellung einiger Salze ihre Zusammensetzung und ihre wichtigsten Eigenschaften zu ermitteln.

Dieses flüchtige Oel ist in Wasser wenig löslich. Die Lösung färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan intensiv roth, als Zeichen, dass der Körper ein Pyrrolderivat ist; aus weiter unten anzuführenden Gründen werden wir die Substanz Hämopyrrol nennen. Ihre wässerige Lösung giebt mit Sublimatlösung ein Quecksilberdoppelsalz in Form eines amorphen, weissen Niederschlages, der in Alkohol löslich, in Wasser aber völlig unlöslich ist. Dieses Doppelsalz wurde durch Waschen mit Wasser von überschüssigem Sublimat befreit, Anfangs auf Fliesspapier, sodann im Vacuum über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt. Da die trockene Substanz in wässeriger Salzsäure sich nur theilweise, mit Hinterlassung eines braunen, amorphen Rückstandes löste, so wurde sie in 96 proc. Alkohol unter Zusatz von etwas Salzsäure gelöst und die klare Lösung mit eiskaltem Schwefelwasserstoffwasser gefällt. Das abgeschiedene Schwefelquecksilber wurde mit eiskaltem Wasser, dann mit Alkohol gewaschen und bei 105° getrocknet. Das Salz enthält ausser Quecksilber auch Chlor. Die Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung wurde daher durch vorsichtige Verbrennung mit Bleichromat ausgeführt. Das Chlor wurde in einer besonderen Probe nach Carius bestimmt.

Die Analysen ergaben, dass dieses Salz nach der Formel $(C_8H_{12}N)_2Hg(HgCl_2)_4$ zusammengesetzt ist, wie aus der folgenden Zusammenstellung hervorgeht:

0.2950 g Substanz: 0.1373 g CO_2, 0.0457 g H_2O. — 0.3342 g Substanz: 5.95 ccm N (19.9°, 747 mm). — 0.3048 g Substanz: 0.2278 g AgCl. — 0.2296 g Substanz: 0.1753 g HgS.

$C_{16}H_{24}N_2Cl_8Hg_5$. Ber. C 12.56, H 1.57, N 1.83, Cl 18.68, Hg 65.44
Gef. C 12.72, H 1.72, N 2.01, Cl 18.48, Hg 65.85.

Im Capillarrohr erhitzt, sintert dieses Salz gegen 70° stark zusammen und färbt sich beim weiteren Erhitzen immer dunkler. Gegen 90° wird ein dunkler Tropfen sichtbar, ohne dass die Substanz ganz geschmolzen wäre; offenbar ist bei dieser Temperatur das Salz ganz zersetzt.

Mit Pikrinsäure giebt das Hämopyrrol eine krystallinische Verbindung, die am zweckmässigsten auf folgende Weise bereitet wird.

Da das Hämopyrrol sehr flüchtig ist und schon mit den ersten Wassertropfen in die Vorlage übergeht, so wird die Destillation so lange fortgesetzt, bis das Anfangs übergegangene Oel in dem übergegangenen Wasser zum grössten Theil gelöst ist und nur wenige Oeltropfen auf der Oberfläche schwimmen. Das Destillat wird jetzt mit warmer, gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt und auf 0° abgekühlt. Alsbald beginnt die Abscheidung des Pikrats, das in gelben Nadeln oder sechsseitigen Blättchen krystallisirt. Wir versuchten das abfiltrirte und an der Luft auf Fliesspapier getrocknete Salz durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser zu reinigen, beim Erwärmen damit zersetzte sich das Salz aber vollständig. Aus heissem Benzol konnte es dagegen sehr gut umkrystallisirt werden. Die Analysen des im Vacuum über Schwefelsäure bis zu constantem Gewichte getrockneten Pikrates ergaben, dass es nach der Formel $C_8H_{13}N . C_6H_2(NO_2)_3OH$ zusammengesetzt ist.

0.2475 g Substanz: 0.4322 g CO_2, 0.1118 g H_2O. — 0.2585 g Substanz: 35 ccm N (16°, 771 mm).

$C_8H_{13}N . C_6H_2(NO_2)_3OH$. Ber. C 47.73, H 4.55, N 15.72
Gef. C 47.62, H 5.01, N 16.10.

Im Capillarröhrchen schmilzt das Pikrat bei 108° und zersetzt sich unter schwacher Verpuffung gegen 125°.

Aus den Analysen dieser beiden Salze geht hervor, dass das Hämopyrrol die Zusammensetzung $C_8H_{13}N$ hat. In verdünnten Mineralsäuren ist es löslich, nicht aber in Essigsäure. Krystallinische Salze mit den ersteren konnten wir nicht erhalten. Alle diese Eigenschaften sprechen dafür, dass der Körper ein Pyrrolderivat ist, und die Zusammensetzung des Quecksilbersalzes zeigt, dass es der Imidwasserstoff ist, der durch Metall ersetzt wurde.

An der Luft färbt sich das Hämopyrrol in kurzer Zeit roth. Der hier zuerst entstehende Farbstoff ist das hämatogene Urobilin — die Ursache der Urobilinurie nach Blutergüssen. — Schon nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur an der Luft enthält die wässerige Lösung des Hämopyrrols Urobilin. Wird die schön rosa gefärbte Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht, so färbt sie sich gelb und, falls noch unverändertes Hämopyrrol vorhanden ist, wird die Lösung milchig getrübt. Durch Zusatz minimaler Mengen einer ammoniakalischen Zinklösung wird die gelbe Farbe schön rosa mit prächtig grüner Fluorescenz. Die Lage des Absorptionsbandes im Spectrum dieses Urobilins ist identisch mit dem des aus Bilirubin dargestellten Urobilins, wie wir dies durch Vergleich der beiden Absorptionsspectra constatirt haben. Wie zu erwarten war, wird das Hämopyrrol auch vom Thierkörper als Urobilin ausgeschieden. Ein gesundes, männliches Kaninchen, 2.2 kg schwer, dessen Harn vier Tage vorher täglich auf Indican und Urobilin mit negativem Resultate geprüft wurde, erhielt, nachdem die Harnblase kurz vorher

entleert worden, subcutan circa 0.05 g Hämopyrrol in 40 ccm Wasser. Schon nach drei Stunden enthielt der mit Katheter entnommene Harn etwas Urobilin. Die Hauptmenge des Urobilins wurde in der dritten bis zehnten Stunde ausgeschieden, und das Urobilin verschwand aus dem Harne erst nach 46 Stunden. Bekanntlich tritt nicht allein nach grösseren Blutergüssen, sondern schon nach kleineren Blutextravasaten Urobilin im Harne auf. Der Ursprung dieses Urobilins wird auf die Zersetzung des ausgetretenen Blutfarbstoffs zurückgeführt, und diese Urobilinurie, zum Unterschiede von der vom Gallenfarbstoff herstammenden hepatogenen Urobilinurie, als hämatogene Urobilinurie bezeichnet. Die rothen, später blauen und grünen Flecke, welche nach kleineren, oberflächlichen Blutextravasaten auf der Haut Jedermann bekannt sind, zeigen die einzelnen Phasen der allmählichen Zersetzung des Blutfarbstoffs an, die wir jetzt alle, auch ausserhalb des Organismus, durch abwechselnde Oxydation und Reduction hervorrufen können. Interessant ist es, dass die Reduction des Blutfarbstoffs im Organismus offenbar bis zur Bildung des Hämopyrrols, der Muttersubstanz des Urobilins, führt. Wir werden die physiologische Wirkung des Hämopyrrols, das den ersten Versuchen zufolge nicht ungiftig ist, einer genaueren Untersuchung unterwerfen. Indican tritt bei Kaninchen, nach Injection des Hämopyrrols, im Harne nicht auf.

Nach längerem (mehrwöchentlichem) Stehen des Hämopyrrols an der Luft, allem Anscheine nach durch weitere Oxydation des Urobilins, entsteht ein violetter Farbstoff, der noch den Absorptionsstreifen des Urobilins zeigt, aber mit ammoniakalischer Zinklösung nicht mehr fluorescirt.

Das durch Reduction mittelst Natriumamalgam aus Bilirubin erhaltene Urobilin (Hydrobilirubin) hat nach den Analysen Maly's[1]) die Zusammensetzung $C_{32}H_{40}O_7N_4$. Die Eigenschaften des Urobilins aus Bilirubin und des Urobilins aus Blutfarbstoff sind in jeder Hinsicht sehr ähnlich und die beiden Körper höchst wahrscheinlich isomer. Wenn daher aus Hämopyrrol Urobilin entsteht, so müssen unter Sauerstoffaufnahme und Wasserabspaltung vier Moleküle Hämopyrrol zu einem Molekül Urobilin, nach der Gleichung $(C_8H_{13}N)_4 + O_{13} = C_{32}H_{40}O_7N_4 + 6H_2O$ zusammentreten.

Das Hämin wird durch Bromwasserstoff fast quantitativ in zwei Moleküle Hämatoporphyrin gespalten; folglich muss auch das Hämato- resp. Meso-, resp. Phylloporphyrin aus zwei Molekülen Hämopyrrol bestehen.

Würde die Ausbeute an Hämopyrrol mehr als 50 Proc. betragen, so wäre damit bewiesen, dass wirklich das Hämin durch Verkettung von vier Hämopyrrolmolekülen gebildet wird. Der Umstand, dass die Reduction des Hämins durch JH und PH_4J in den oben angegebenen Verhältnissen ganz glatt vor sich geht, und wir nach dem Abdestilliren des Hämopyrrols in dem Kolbenrückstande kein anderes Product mehr gefunden haben, spricht auch zu Gunsten dieser Annahme. Wir haben sie jedoch experimentell beweisen wollen, und da die Quecksilberverbindung des Hämopyrrols in Wasser unlöslich ist, so haben wir abgewogene Mengen des Acethämins nach der Reduction mit JH und PH_4J aus schwach essigsaurer, in anderen Versuchen aus

[1]) Ann. d. Chem. **163**, 77 bis 95 (1872) und Maly's Jahresber. **2**, 232 (1872).

schwach alkalischer Lösung so lange destillirt, bis das Destillat mit Sublimatlösung keine Trübung mehr zeigte. Aus einem aliquoten Theil des Destillats wurde das Hämopyrrol gefällt und der Niederschlag nach dem Trocknen gewogen. Die grösste Menge Hämopyrrol wurde aus den schwach essigsauren Lösungen erhalten und betrug 32 Proc. von der theoretisch zu erwartenden Menge. Wurde die Reductionslösung mit Alkali übersättigt, so war die Ausbeute stets geringer und betrug ceteris paribus 20 bis 25 Proc. Wir konnten unsere Annahme durch diese Bestimmung nicht bestätigen. Allem Anscheine nach wird beim Erhitzen, namentlich der alkalischen Lösung, ein Theil des Hämopyrrols zerstört. Nach Abdestilliren des Hämopyrrols färbt sich der Kolbeninhalt beim Stehen an der Luft immer dunkler, und an der Oberfläche bildet sich in geringer Menge eine amorphe, grünlich gefärbte, harzige Substanz. Möglicherweise wird nicht alles Hämopyrrol durch Quecksilberchlorid ausgefällt und ein Theil der Base an die frei gewordene Salzsäure gebunden. Wir wollen demnächst diese Frage experimentell entscheiden. Dafür, dass das Hämin aus vier Molekülen Hämopyrrol besteht, spricht auch der Umstand, dass W. Küster[1]) bei der Oxydation des Hämatins mit Chromsäure mehr als 50 Proc. Hämatinsäure erhalten hat.

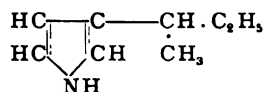
Unter dem Vorbehalt, dass unsere Vermuthung sich durch spätere Untersuchung bestätigt, können wir schon jetzt ein ungefähres Bild von dem chemischen Bau des Hämins und der Porphyrine entwerfen, wodurch Anhaltspunkte für weitere Forschungen gegeben werden.

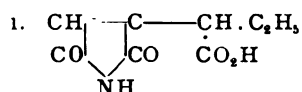
Das Hämopyrrol ist entweder ein Hexahydroindol, oder die mit dem Pyrrolkern verbundene C_4H_9-Gruppe bildet eine offene Kette, d. h. das Hämopyrrol könnte ein Butyl- oder Methylpropylpyrrol u. s. w. sein. Unter der Voraussetzung, dass das Hämopyrrol ein Hexahydroindol ist, haben wir es durch gelinde Oxydation in Indol zu verwandeln gesucht. Der Erfolg war ein negativer; auch das von Tafel[2]) zum Dehydrogenisiren des Piperidins und des Tetrahydrochinolins angewandte Silber- resp. Quecksilberacetat hat uns mit Hämopyrrol keine Spur von Indol gegeben. Alle unsere Versuche sprechen mehr zu Gunsten der Annahme, dass das Hämopyrrol entweder ein Butyl- oder ein Methylpropylpyrrol ist.

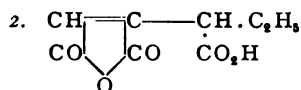
Nachdem wir das Hämopyrrol aufgefunden hatten, wurde es uns gleich klar, dass es in naher Beziehung zu den Küster'schen Hämatinsäuren stehen muss. Von ganz anderen Gesichtspunkten ausgehend, sind wir zu der gleichen Ansicht wie auch Küster[3]) gekommen, dass die Hämatinsäuren durch die Oxydation des Pyrrolkerns entstehen. Maassgebend dafür, welches Kohlenstoffatom ausser den beiden Pyrrolkohlenstoffen zu Carboxyl oxydirt wird, ist die Beobachtung von Kölle[4]), wonach das Anhydrid der Küster'schen dreibasischen Säure C_8H[illegible]O[illegible] durch JH zu der Säure $C_8H_{13}O_6$ reducirt wird, welche den gleichen Schmelzpunkt und sonstige Eigenschaften wie die von Auwers, Köbner und Meyenburg[5])

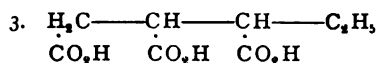
[1]) Ann. d. Chem. **315**, 177 (1901).
[2]) Ber. **25**, 1620 (1892).
[3]) Ann. d. Chem. **315**, 186 (1901).
[4]) Dessen Inauguraldissertation. Tübingen 1898.
[5]) Ber. **24**, 310 u. 2897 (1891).

synthetisch dargestellte Aethyltricarballylsäure hat. Danach müsste das Hämopyrrol folgende Structur

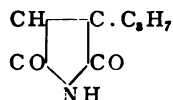
$$
\begin{array}{l}
HC\text{——}C\text{——}CH\,.\,C_2H_5 \\
HC\quad\ \ CH \quad\ CH_3 \\
\quad\ NH
\end{array}
$$

haben, und bei der Oxydation zu der Küster'schen Säure von der Formel $C_8H_9O_4N$ das Methyl der Seitenkette zu Carboxyl oxydirt werden.

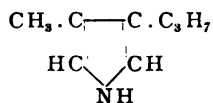
$$
1.\quad
\begin{array}{l}
CH\text{——}C\text{——}CH\,.\,C_2H_5 \\
CO\quad\ \ CO \quad\ CO_2H \\
\quad\ NH
\end{array}
$$

= Partielles Imid der Aethylaconitsäure = Küster'sche Säure $C_8H_9O_4N$.

$$
2.\quad
\begin{array}{l}
CH\text{===}C\text{——}CH\,.\,C_2H_5 \\
CO\quad\ \ CO \quad\ CO_2H \\
\quad\ O
\end{array}
$$

= Partielles Anhydrid der Aethylaconitsäure = Küster'sche Säure $C_8H_8O_5$; aus der letzteren durch Reduction:

$$
3.\quad
\begin{array}{llll}
H_2C\text{——} & CH\text{——} & CH\text{——} & C_2H_5 \\
CO_2H & CO_2H & CO_2H &
\end{array}
$$

Aethyltricarballylsäure von Auwers.

Durch Abspaltung von Kohlensäure geht das Imid, $C_8H_9O_4N$, in das Imid der Propylmaleïnsäure über.

$$
\begin{array}{l}
CH\text{——}C\,.\,C_3H_7 \\
CO\quad\ \ CO \\
\quad\ NH
\end{array}
$$

Nach Küster[1]) ist es aber wahrscheinlicher, dass dieses Imid identisch mit dem Imid der Methyläthylmaleïnsäure von Fittig ist. Wenn die Ansicht von Küster die richtige ist, und für molekulare Umlagerungen ist auch kein Grund vorhanden, so wäre das Hämopyrrol ein Methylpropylpyrrol,

$$
\begin{array}{l}
CH_3\,.\,C\text{——}C\,.\,C_3H_7 \\
\quad\ HC\quad\ \ CH \\
\qquad\ NH
\end{array}
$$

Welche von den beiden Formeln dem Hämopyrrol zukommt, wird wohl in der nächsten Zukunft entschieden werden; davon wird auch die Vorstellung abhängig sein, die wir über den molekularen Bau des Bilirubins und der drei bis jetzt bekannten Porphyrine haben werden. Ist das Hämopyrrol ein Isobutylpyrrol, so ist die Configuration der Porphyrine durch Verkettung zweier Hämopyrrolmoleküle z. B. nach folgendem Schema sehr einfach zu veranschaulichen:

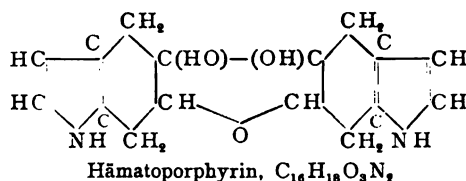
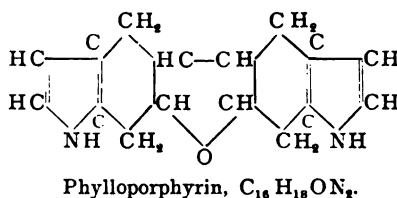
[1]) l. c. S. 215.

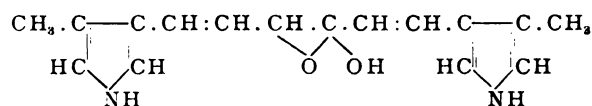
```
          CH2                    CH2
       C /  \                   /  \ C
HC———— /    \C(HO)—(OH)C/    \———— CH
                |                |
HC        CH                  CH      CH
  \  / C \ /  \____     ____/  \ / C \  /
  NH   CH2         O          CH2   NH
```

Hämatoporphyrin, $C_{16}H_{18}O_3N_2$

und

```
          CH2            CH2
       C /  \           /  \ C
HC———— /    \HC—CH/    \———— CH
  |    ||     |       |     ||    ||
HC     ||    CH      CH     ||    CH
  \  / C \ /   \    /   \ / C \  /
  NH   CH2      \  /     CH2   NH
                 O
```

Phylloporphyrin, $C_{16}H_{18}ON_2$.

Wir wollen jedoch bei der augenblicklich noch mangelhaften Kenntniss der Spaltungsproducte die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass die Porphyrine nicht von einem Butylpyrrol, sondern von einem Methylpyrrol abzuleiten sind. Für die Präexistenz des Methylpyrrols spricht der Umstand, dass diese Farbstoffe aller Wahrscheinlichkeit nach aus einem der Spaltungsproducte des Eiweisses — der chromogenen Gruppe desselben — gebildet werden. Das Indol, das Skatol und die Skatolessigsäure hat der Eine von uns als Spaltungsproducte des Eiweisses aufgefunden und auf die genetische Beziehung des Blutfarbstoffs, des Gallenfarbstoffs und der thierischen Melanine zu einander und zum Indol hingewiesen [1]). Nehmen wir z. B. für das Mesoporphyrin folgende Structurformel an:

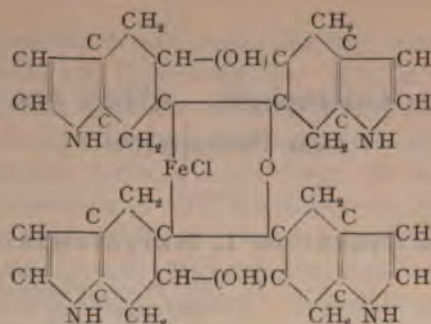
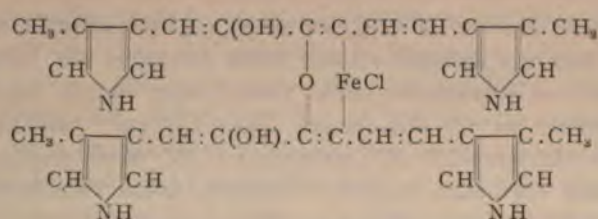
```
CH3.C———C.CH:CH.CH.C.CH:CH.C———C.CH3
    |   |          \ / \        |   |
   HC   CH          O   OH     HC   CH
     \ /                         \ /
     NH                          NH
```

so kann daraus durch Abspaltung einer Pyrrolgruppe und Ringschluss die Entstehung des Skatols oder der Skatolessigsäure leicht abgeleitet werden. Es ist auch denkbar, dass die Porphyrine aus je einem Molekül Butylpyrrol und Methylpropylpyrrol zusammengesetzt sind. Dass hier zahlreiche isomere Verbindungen zu erwarten sind, beweist schon die Isomerie des Bilirubins und des Hämatoporphyrins.

Das Hämin wird durch Bromwasserstoff in Eisessig unter Wasseraufnahme und Abspaltung von Eisen glatt in zwei Hämatoporphyrinmoleküle gespalten. Sehr wahrscheinlich werden also die beiden Porphyrinmoleküle im Hämin durch das Eisen zusammengehalten. Von den drei Sauerstoffen des Hämins hat keiner die Eigenschaften eines Aldehyd- oder Ketonsauerstoffs; nachgewiesenermaassen sind aber zwei Sauerstoffe darin als Hydroxyle enthalten. Je nachdem wir das Hämopyrrol als Butyl- oder Methylpropylpyrrol betrachten, könnte das Hämin folgende Structur haben:

[1]) Ber. **28**, 567 (1895). — Dieser Band S. 515.

```
            CH₂                     CH₂
         C /   \                 /    \ C
  CH ─── ‖      CH─(OH)C        ‖  ─── CH
  CH      \     C ────────── C       CH
    \    / C    |            |    C \  /
    NH  CH₂     |            |   CH₂  NH
              FeCl           O
            CH₂ |            |  CH₂
         C /   \|            |/    \ C
  CH ─── ‖      C ────────── C     ‖ ─── CH
  CH      \     CH─(OH)C            /    CH
    \    / C                    C \    /
    NH  CH₂                     CH₂  NH
```

oder

```
CH₃.C ── C.CH:C(OH).C:C.CH:CH.C ── C.CH₃
CH     CH           |  |         CH     CH
   NH               O  FeCl         NH
                    |  |
CH₃.C ── C.CH:C(OH).C:C.CH:CH.C ── C.CH₃
CH     CH                        CH     CH
   NH                               NH
```

Aus den Elementaranalysen haben wir seiner Zeit für das Hämin die empirische Formel $C_{32}H_{31}O_3N_4ClFe$ abgeleitet. Die eben aufgestellten Structurformeln des Hämins enthalten ein Wasserstoffatom mehr. Bei dem hohen Molekulargewicht dieses Farbstoffs liegt der Unterschied im plus oder minus von einem Wasserstoffatom ganz innerhalb der analytischen Fehlergrenzen. Dass das Hämin kein salzsaures Salz des Hämatins ist, wurde schon früher von uns gezeigt. Allem Anscheine nach ist das Chlor mit dem Eisen verbunden, und beim Auflösen des Hämins in Alkalien, wobei es in Hämatin übergeht, wird das Chlor durch Hydroxyl ersetzt. Es ist noch die Möglichkeit zu berücksichtigen, dass das Eisen nicht zwei Kohlenstoff-, sondern zwei Stickstoffatome der beiden Porphyrinmoleküle verbindet. Im Acethämin ist es jedenfalls auch ein Imidwasserstoff, der durch Acetyl ersetzt ist.

In unserer letzten Publication [1]) haben wir darauf hingewiesen, wie leicht das Hämatoporphyrin unter Wasseraustritt anhydridische, complexere Moleküle bildet. Durch die Abspaltung des Hämopyrrols als ihrer Muttersubstanz wird die Aufklärung ihrer Constitution wesentlich erleichtert. Wir zweifeln auch nicht daran, dass das Phylloporphyrin, mit Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid in Eisessig behandelt, Hämopyrrol geben wird. Unsere nächste Aufgabe wird sein, die Einwirkung dieser Reagentien auf das Bilirubin, die thierischen Melanine und in erster Linie auf das Proteïnochromogen resp. sein Brom- oder Chlorsubstitutionsproduct zu untersuchen.

[1]) Zeitschrift f. physiolog. Chem. **30**, 431 (1900). — Dieser Band S. 758.

Zur Chemie des Chlorophylls. Abbau des Phyllocyanins zum Hämopyrrol

von

M. Nencki und **L. Marchlewski.**

Ber. **34**, 1687; eingegangen am 28. Mai. — Arch. des sciences biol. **9**, 393. — Rozprawy Akademii Umiejętności w Krakowie **41**, 333.

Wie der Eine von uns (M. Nencki) kürzlich gemeinschaftlich mit J. Zaleski gezeigt hat [1]), lässt sich Hämatoporphyrin durch Reduction mit Jodwasserstoffsäure bei Anwesenheit von Jodphosphonium zu einem Körper von der empirischen Formel $C_8H_{13}N$ reduciren, der mit dem Namen „Hämopyrrol" bezeichnet wurde und welcher höchst wahrscheinlich ein Isobutylpyrrol oder Methylpropylpyrrol darstellt. Auf Grund dieses Ergebnisses konnten bereits jetzt schon Vermuthungen bezüglich der Constitution des Hämatoporphyrins und Hämins geäussert werden, Vermuthungen, die mit den Küster'schen Oxydationsergebnissen des Hämatoporphyrins sehr gut in Einklang zu bringen waren.

Die Bildung des Hämopyrrols unter den angedeuteten Bedingungen war aber nicht allein für die Constitutionsbestimmung des Blutfarbstoffes von grosser Bedeutung, sie konnte auch sofort auf ein anderes, nicht minder wichtiges Gebiet, nämlich das des Chlorophylls, übertragen werden, da bekanntlich nach den von dem Anderen von uns (L. M.) gemeinschaftlich mit Eduard Schunck [2]) und später mit C. A. Schunck [3]) gelieferten Beweisen Hämatoporphyrin und Phylloporphyrin nahe verwandte Körper sind. Um nun die behauptete Verwandtschaft noch an Hand weiterer Versuche zu erörtern, war es erforderlich, von beiden genannten Körpern ausgehend, zu einem wenn möglich identischen Abbauproduct zu gelangen. Die früher in dieser Richtung ausgeführten Versuche lieferten das immerhin interessante Resultat, dass bei der trockenen Destillation Hämatoporphyrin wie auch Phylloporphyrin Pyrrol, bezw. Homologe desselben liefern, welches jedoch als absoluter Beweis des Vorhandenseins gemeinschaftlicher Kerne in den studirten Substanzen nicht betrachtet werden konnte. Viel beweisender musste die eventuelle Identität der Reductionsproducte des Hämatoporphyrins und Phylloporphyrins unter dem Einfluss von Jodwasserstoffsäure bei Anwesenheit von Jodphosphonium sein, da die Reaction im Falle des Hämatoporphyrins erfahrungsgemäss verhältnissmässig sehr glatt verlief und überdies nicht zu allzu energischen Eingriffen zu zählen war. Da uns Phylloporphyrin in genügenden Mengen nicht zur Verfügung stand, so versuchten wir es durch eine seiner Muttersubstanzen, nämlich das Phyllocyanin, zu ersetzen, welches nach den Versuchen von E. Schunck gegen reducirende Agentien sehr empfindlich

[1]) Ber. **34**, 997 (1901). — Siehe vorstehende Abhandlung.
[2]) Proc. Roy. Soc. **59**, 233 (1896).
[3]) Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie 1900.

ist. Unsere Erwartungen haben sich vollauf bestätigt; Phyllocyanin lässt sich in Form seines Doppelsalzes mit Kupferacetat sehr leicht zu Hämopyrrol reduciren, welches sich in Form seiner Quecksilberchloriddoppelverbindung leicht isoliren lässt.

Bezüglich der Darstellung des Phyllocyanindoppelsalzes wird es genügen, zu erwähnen, dass es nach einer Methode erhalten war, die im Wesentlichen mit der Schunck'schen übereinstimmte[1]). Das hierzu benutzte Phyllocyanin wurde aber durch ein durch Säuren leicht spaltbares Phyllocyaninzinkcarbonatdoppelsalz gereinigt, ein Verfahren, das später genauer beschrieben werden soll. Trotzdem war das verwendete Kupfersalz nicht absolut einheitlich; es enthielt vielmehr, a lerdings nur in sehr kleinen Mengen, ausser Essigsäure, irgend eine höhere Pflanzensäure. Das Kupfer ist in derartigen Doppelverbindungen des Phyllocyanins nicht als Ion vorhanden, lässt sich also durch die gewöhnlichen Reagentien nicht nachweisen und spielt demnach hier eine ähnliche Rolle wie das Eisen im Hämin, dabei aber, wie es scheint, dem Molekül noch stärker anhaftend als das Eisen in letzterem Falle. Es war demnach etwas überraschend zu finden, dass Phyllocyaninkupferacetat durch reducirende Agentien sehr leicht angegriffen wird; so z. B. wird seine eisessigsaure Lösung durch Zinkstaub sehr bald farblos — a priori musste demnach die Reduction mit Jodwasserstoffsäure noch leichter verlaufen. Letztere geschah wie folgt:

2 g des Phyllocyaninkupferacetats wurden mit 35 g Jodwasserstoffsäure vom spec. Gewicht 1.96 und 35 g Eisessig auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 15 Minuten ging alles Kupfersalz in Lösung über, worauf Jodphosphonium in kleinen Stückchen zu der warmen Lösung zugegeben wurde. Nach 30 Minuten, als schon 8 g PH_4J verbraucht waren, gab eine herausgenommene Probe nach Wasserzusatz einen gelben, amorphen Niederschlag, weshalb das Eintragen von PH_4J noch weiter fortgesetzt wurde. Als nach weiteren 15 Minuten und Zusatz von noch 4 g PH_4J eine herausgenommene Probe nach Wasserzusatz den gleichen Niederschlag und in ziemlich der gleichen Menge ergab, wurde die Reduction als beendigt betrachtet und die noch warme Lösung mit dem vierfachen Volumen Wasser versetzt. Von dem entstandenen gelben Niederschlage wurde abfiltrirt und das Filtrat in zwei Hälften getheilt. Die eine Hälfte wurde mit Kalilauge übersättigt und destillirt. Schon mit dem ersten Tropfen des Destillates ging ein wenig gefärbtes Oel von dem charakteristischen Hämopyrrolgeruch über, und als eine Probe des Destillates, mit Sublimatlösung versetzt, einen weissen, amorphen Niederschlag gab — eine für Hämopyrrol charakteristische Reaction —, wurde die Destillation so lange fortgesetzt, bis das Destillat durch Quecksilberchlorid nicht mehr getrübt wurde. Das Gesammtdestillat wurde von geringen Mengen amorpher, auf der Oberfläche schwimmender Flocken abfiltrirt und mit Quecksilberchloridlösung ausgefällt. Der von überschüssigem Quecksilberchlorid durch Waschen mit Wasser befreite Niederschlag, auf Fliesspapier, sodann im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet, wog 0.2620 g. Die Quecksilberbestimmung ergab folgende Zahlen:

0.2436 g Substanz: 0.1845 g HgS, entsprechend 65.29 Proc. Hg. — Hämopyrrolquecksilberdoppelsalz, $(C_8H_{12}N)_2Hg(HgCl_2)_4$, enthält 65.44 Proc. Hg.

[1]) Vergl. L. Marchlewski, Die Chemie des Chlorophylls. Hamburg und Leipzig 1895, S. 33.

Die andere Hälfte des Filtrats wurde zur Darstellung des Urobilins verwendet. Sie wurde ebenfalls mit Kalilauge übersättigt und der Destillation unterworfen. Das Destillat gab auch hier einige ölige Tropfen von dem charakteristischen Geruch und färbte einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspan intensiv roth. An der Luft färbte sich alsbald das Destillat rosaroth, und schon am dritten Tage war in der im offenen Kolben bei Zimmertemperatur aufbewahrten Flüssigkeit ein geringer, rother Bodensatz vorhanden, der, abfiltrirt und in alkoholischem Ammoniak gelöst, mit alkoholisch-ammoniakalischer Zinklösung die charakteristische grüne Fluorescenz und den Absorptionsstreifen zwischen *b* und *F* zeigte. Wir liessen jedoch, um grössere Mengen des Farbstoffes zu erhalten, die Lösung acht Tage im offenen Kolben stehen und filtrirten erst dann den entstandenen rothen Niederschlag ab. Dieser Niederschlag wurde in Alkohol gelöst, ein Theil der Lösung mit etwas Salzsäure versetzt, ein anderer ammoniakalisch gemacht und mit alkoholisch-ammoniakalischer Chlorzinklösung versetzt, worauf die gelbe alkalische Lösung rosa mit grüner Fluorescenz wurde. Sowohl die alkoholische salzsaure Lösung, als auch die zinkhaltige ammoniakalische gab beim Vergleich mit den entsprechenden Lösungen des Urobilins aus Bilirubin im Spectrum identische Absorptionsbänder. Es ist somit erwiesen, dass Phyllocyanin durch Jodwasserstoffsäure und Phosphoniumjodid in eisessigsaurer Lösung zu Hämopyrrol reducirt wird; und es ist interessant, dass, von einem der nächsten Derivate des Chlorophylls ausgehend, wir jetzt diejenige Substanz darstellen können, die nach Blutergüssen und Blutextravasaten im Thierkörper entsteht und in den Harn übergeht. Zur Darstellung der Pikrinsäureverbindung reichte das vorhandene Material nicht aus.

Die als zweites Reductionsproduct des Phyllocyanins erhaltene gelbe, amorphe Substanz soll später näher untersucht werden.

Wie Phyllocyanin, so werden sich selbstverständlich auch sämmtliche anderen bis jetzt bekannten Chlorophyllderivate verhalten; die einschlägigen Experimente sollen, sobald das nöthige Material vorhanden ist, zur Ausführung kommen.

Krakau u. St. Petersburg, im Mai 1901.

Ueber die Bestimmung des Ammoniaks in thierischen Flüssigkeiten und Geweben

von

M. Nencki und **J. Zaleski.**

Zeitschr, f. physiolog. Chem. **33**, 193; der Redaction zugegangen am 29. Juni 1901. — Arch. des scienc. biolog. **9**, 322.

Die quantitative Bestimmung des freien oder in Form von Salzen in den thierischen und pflanzlichen Säften und Geweben enthaltenen Ammoniaks hat von jeher grosse Schwierigkeiten geboten und bis in die letzte Zeit hatten wir dafür keine zuverlässige Methode. Bis auf wenige Ausnahmen sind fast alle diese Materien

eiweisshaltig und schon vor längerer Zeit hat der Eine von uns gemeinschaftlich mit N. Sieber[1]) gezeigt, dass die verschiedensten Eiweissstoffe, namentlich bei Bruttemperatur, atmosphärischen Sauerstoff absorbiren und dabei Ammoniak abspalten. Ausserdem enthalten die Gewebe und das Blut aller Wahrscheinlichkeit nach stickstoffhaltige Substanzen, wie z. B. die Aminoverbindungen der Kohlehydrate, welche äusserst leicht unter Abspaltung von Ammoniak sich zersetzen[2]).

Anlässlich unserer Untersuchungen über den Ammoniakgehalt des Blutes nach Anlegung der Fistel zwischen der Pfortader und der Vena cava waren wir daher genöthigt, eine neue Methode zur NH_3-Bestimmung im Blute und den Organen auszuarbeiten. Bei der Durchsicht der hierauf bezüglichen Literatur schien uns das im Jahre 1889 von C. Wurster[3]) vorgeschlagene Verfahren, das Ammoniak in den thierischen Säften und Organen durch Destillation im Vacuum zu bestimmen, praktisch zu sein. Wir haben daher, auf gleichem Principe fussend, einen zweckmässigeren Apparat construirt und durch eine Reihe von Controlbestimmungen zu ermitteln gesucht, unter welchen Bedingungen damit der Ammoniakgehalt im Harne, in den thierischen Geweben und selbst in solchen Flüssigkeiten, die nur minimale Ammoniakmengen enthalten, wie z. B. das Blut oder die Lymphe, bestimmt werden kann. Unsere hierauf bezüglichen Untersuchungen haben wir im Jahre 1895 in dem Archiv für exper. Pathol. und Pharmak. **36**, 385 u. ff.[4]) veröffentlicht.

Wir haben dort angegeben, dass durch Destillation der Organemulsionen mit Kalkmilch, bei einem Atmosphärendruck von 10 bis 15 mm und 38° C., alles darin vorhandene Ammoniak entweicht und in verdünnter Säure aufgefangen werden kann; dass dagegen Blut nicht mit Kalkmilch, sondern mit filtrirtem Kalkwasser im Vacuum destillirt werden müsse, da im ersten Falle andere Bestandtheile des Blutes unter Abspaltung von NH_3 zersetzt werden. Controlbestimmungen haben uns nämlich gezeigt, dass z. B. 60 g Blut, mit 100 ccm filtrirten Kalkwassers destillirt, bis die Flüssigkeit 35° erreicht hatte, 1.8 mg NH_3 in 100 ccm Blut gaben. Dasselbe Blut, ceteris paribus 2 Stunden lang bei 40° destillirt, gab 1.7 mg NH_3 in 100 ccm Blut. — Ferner in einem anderen Versuche, 50 g arterielles Blut, mit 100 g filtrirten Kalkwassers destillirt, gaben 1.7 mg NH_3 in 100 g Blut. Dasselbe Blut ceteris paribus, jedoch nur mit 40 g filtrirten Kalkwassers destillirt, gab 1.6 mg in 100 g Blut.

Wir haben daraus geschlossen, dass auch bei 40° keiner der Blutbestandtheile unter Ammoniakabspaltung zersetzt werde, sowie dass selbst die doppelte Menge des zugesetzten filtrirten Kalkwassers keinen Einfluss auf die Bildung von Ammoniak habe.

Dieser Schluss erwies sich als irrthümlich, namentlich wenn kleinere Blutmengen verarbeitet wurden. Prof. Biedl in Wien machte uns brieflich darauf aufmerksam, dass die von ihm nach unserer Methode gefundenen NH_3-Mengen

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. **26**, 1 u. ff. (1882). — Nencki's Opera omnia **1**, 643.

[2]) Vergl. auch C. A. Lobry de Bruyn et F. H. Leent, Rec. des travaux chimiques des Pays-Bas. **14**, 140 (1895) und R. Breuer, Ber. **31**, 2193 (1898).

[3]) Ber. **22**, 1903 (1889).

[4]) Dieser Band S. 518.

erheblich geringer als die von uns gefundenen seien und in einer vorläufigen, gemeinschaftlich mit H. Winterberg[1]) publicirten Mittheilung kommt er zu dem Ergebnisse, „dass der erhaltene NH_3-Werth innerhalb gewisser Grenzen direct abhängig sei von dem Verhältnisse der zur Bestimmung verwendeten Blut- und Kalkwassermenge".

Sie erhielten aus:

	mg NH_3 in 100 ccm Blut
100 g Blut + 200 g Kalkwasser	0.44
50 g „ + 200 g „	1.88
25 g „ + 200 g „	4.21

in einem zweiten Versuche:

50 g Blut + 100 g Kalkwasser	1.02
50 g „ + 200 g „	3.25
50 g „ + 400 g „	5.76

Durch die gefällige Mittheilung von Prof. A. Biedl veranlasst, haben wir Blut mit wechselnden Mengen des filtrirten Kalkwassers im Vacuum destillirt und uns von der Richtigkeit des von A. Biedl und H. Winterberger erhobenen Einwandes überzeugt. Richtige NH_3-Werthe wurden nur erhalten, wenn 100 bis 50 ccm Blut mit dem gleichen Volumen Kalkwasser destillirt wurden. Bei Anwendung von kleineren Blutmengen wurden schon durch die doppelte Menge des Kalkwassers die NH_3-Werthe grösser. Bei Anwendung selbst von 100 ccm Blut und der dreifachen Kalkwassermenge war dies ebenfalls der Fall und es scheint, wie dies von Biedl und Winterberger hervorgehoben wird, dass innerhalb gewisser Grenzen die entwickelte NH_3-Menge direct im Verhältniss zu der Menge des zugesetzten Kalkwassers steht. Es war klar, dass, wenn die Bestimmung des Ammoniaks durch Destillation im Vacuum eine allgemeine Anwendung finden und dabei zuverlässig sein sollte, die Anwendung selbst des filtrirten Kalkwassers ausgeschlossen war.

Von der Thatsache ausgehend, dass das Blut in 100 g höchstens einige Milligramme NH_3 enthält und der Alkaligehalt des Blutes, titrimetrisch bestimmt, etwa 300 mg in 100 g beträgt, was also mehr als hinreichend ist, um alles NH_3 aus dem Blute auszutreiben, haben wir angenommen, dass, wenn Blut im Vacuum ohne jeden Alkalizusatz destillirt wird, auch dann alles NH_3 aus dem Blute sich verflüchtigen müsse. Diese Annahme hat sich, wie weiter unten gezeigt wird, als ganz zutreffend erwiesen. Aus den fein zerkleinerten und mit Wasser zu einem dünnen Brei angerührten Geweben lässt sich dagegen das NH_3 im Vacuum ohne Alkalizusatz nicht verflüchtigen. Anlässlich der von dem Einen von uns (Z.) gemeinschaftlich mit S. Salaskin vor Kurzem publicirten Untersuchung „Ueber die Harnstoffbestimmung im Harne"[2]) haben wir gesehen, dass bei der Bestimmung des NH_3 im Ammoniumsulfat in unserem Vacuumapparate nach dreistündiger Destillation bei 31 bis 32° 99.6 Proc. von dem vorhandenen Ammoniak überdestillirten, wovon in der dritten Stunde nur 3.3 Proc. übergingen, wenn zum Freimachen des Ammoniaks nicht Kalk, sondern Magnesia angewendet wurde. Wir fanden ferner, dass auch aus

[1]) Wiener klin. Wochenschrift 1901, Nr. 8.

[2]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. **28**, 77. — Dieser Band S. 682.

carbaminsaurem Ammoniak aller Stickstoff durch Magnesia als Ammoniak freigemacht wird. Frisch dargestelltes carbaminsaures Ammoniak wurde zwischen Fliesspapier abgepresst und die Krystalle in kaltem Wasser gelöst. In 10 ccm der Lösung wurde durch Erwärmen mit 20 ccm $n/_{10}$ H_2SO_4 und nachheriges Zurücktitriren der Gehalt an $NH_3 = 17.48$ mg gefunden. Andererseits wurde in je 10 ccm der gleichen Lösung durch Destillation im Vacuum mit Magnesia 17.27 mg und 17.21 mg NH_3 gefunden. Danach unterliegt es keinem Zweifel, dass das Salz $NH_2CO_2NH_4$, in wässeriger Lösung mit MgO im Vacuum destillirt, quantitativ in Ammoniak und Kohlensäure zerfällt.

Angesichts der Fehler, die bei Anwendung von überschüssigem Kalkwasser möglich sind, hielten wir es daher für wünschenswerth, zu untersuchen, ob bei Ersatz des Kalkes durch Magnesia, auch wenn letztere im Ueberschusse vorhanden, der wahre Ammoniakgehalt im Blute und in den Geweben ermittelt werden kann. Auf Grund zahlreicher Controlversuche glauben wir sagen zu können, dass Magnesiumoxyd wirklich diesen grossen Vorzug vor Calciumoxyd hat. Zunächst haben wir folgende Bestimmungen ausgeführt:

Je 30 g desselben frischen defibrinirten Hundeblutes — es wurden absichtlich so geringe Blutmengen genommen — wurden mit 50 g Wasser in einen Vacuumapparat gebracht und nach erfolgter gleichzeitiger Evacuirung Nr. 1 mit 50 g, Nr. 2 mit 150 g filtrirten Kalkwassers, Nr. 3 mit 50 g Kalkmilch und Nr. 4 mit einer Emulsion aus 2 g MgO in 50 g Wasser versetzt.

Wir erhielten aus:

	mg NH_3 in 100 g Blut
1. 30 g Blut + 50 g Wasser + 50 g filtrirten Kalkwassers	0.68
2. 30 g „ + 50 g „ + 150 g „ „	2.94
3. 30 g „ + 50 g „ + 50 g Kalkmilch	11.53
4. 30 g „ + 50 g „ + 2 g MgO in 50 g Wasser	0.76

In Nr. 1 bis 4 wurde übereinstimmendes Resultat erhalten, denn der geringe Unterschied liegt innerhalb der Fehlergrenze. In Nr. 2 wurde schon mehr als die dreifache und in Nr. 3 die 16 fache Ammoniakmenge gefunden.

In einem folgenden Versuche wurde absichtlich eine kleine Menge Blut mit einem grossen Ueberschuss von Magnesia und dann eine grössere Quantität desselben Blutes mit einer kleineren Menge von Magnesia destillirt.

Wir erhielten aus

	mg NH_3 in 100 g Blut
30 g Blut + 100 g Wasser + 5 g MgO	0.84
53.75 g „ + 30 g „ + 1.5 g „	0.65

Trotz des colossalen Ueberschusses von MgO ist die Menge des verflüchtigten NH_3 eine geringe und der Unterschied zwischen den beiden Zahlen kein erheblicher. Zur Neutralisation des NH_3 aus den 30 g Blut waren nur 0.33 ccm von der $^1/_{20}$ n-Kalilauge erforderlich. Ein Unterschied von nur 0.1 ccm dieser Lauge — also 0.23 statt 0.33 ccm — würde 0.59 mg statt 0.84 mg in 100 g Blut entsprechen. Der Schluss ist daher berechtigt, dass im Gegensatz zum Kalk ein selbst grosser Ueberschuss von MgO keine merkliche Spaltung der übrigen stickstoffhaltigen Bestandtheile des Blutes bewirkt.

Oben haben wir angegeben, dass der Alkaligehalt des Blutes vollkommen genügt, damit das darin vorhandene NH_3 bei der Destillation im Vacuum sich vollständig verflüchtige. Es geht dies aus den Versuchen hervor, wo wir das gleiche Blut einerseits nur mit Wasser verdünnten, andererseits mit dem gleichen Quantum Magnesiaemulsion versetzten und im Vacuum destillirten. Einem Hunde wurde Blut zuerst aus der Art. femoralis, sodann aus der Vena portae entnommen.

Wir erhielten aus

		mg NH_3 in 100 g Blut
100 g arter. Blut	+ 100 g Wasser	0.30
100 g „ „	+ 100 g 2 proc. Magnesiaemulsion	0.28
100 g Pfortaderblut	+ 100 g Wasser	1.01
100 g „	+ 100 g 2 proc. Magnesiaemulsion	1.07

Dieser Versuch beweist auch deutlich, dass Magnesiazusatz kein NH_3 aus den Blutbestandtheilen abspaltet. Ein Uebelstand bei der Destillation des Blutes für sich ist das starke Schäumen, was durch MgO-Zusatz bedeutend herabgesetzt wird.

Dagegen werden aus den Geweben bei fehlender Magnesia nur Spuren von NH_3 entwickelt.

Wir erhielten aus

		mg NH_3 in Proc.
1. 52.7 g frischer Hundemuskel	+ 100 g 2 proc. MgO-Emulsion	13.8
2. 55.9 g „ „	+ 100 g Wasser	0.6
3. 59.1 g frischer Hundeleber	+ 100 g 2 proc. MgO-Emulsion	31.2
4. 61.4 g „ „	+ 100 g Wasser	0.4

Wir haben mehrere Versuche angestellt, um die zweckmässigste Menge der Flüssigkeit, Dauer der Destillation und Temperatur zu ermitteln, damit alles vorhandene NH_3 verflüchtigt werde. Bezüglich der letzteren haben wir gesehen, dass es von Vortheil ist, zwischen dem Säurerecipienten und der Luftpumpe einen Kühler mit einem Reservoir (siehe Fig. 24 auf Seite 813 *L* und *F*) einzuschalten. Wird noch das Gefäss *F* mit Eis oder Schnee abgekühlt, so geräth die Flüssigkeit in *A* schon bei 29° in heftiges Sieden, der Druck sinkt um einige Millimeter in Folge der verminderten Spannkraft des Wasserdampfes und in circa fünf Stunden können etwa 150 bis 200 ccm der Flüssigkeit aus *A* bei 32 bis 34° abdestillirt werden. Folgender Versuch illustrirt das Gesagte:

In zwei gleiche Apparate, wovon der eine ohne Kühler, der andere mit Kühler montirt war, wurden je 250 ccm einer Salmiaklösung, die genau 98.26 mg NH_4Cl enthielten, hineingethan und nach erfolgter Evacuirung der Apparate 50 ccm der Magnesiaemulsion (mit 1.5 g MgO) hinzugesetzt. Nach $2^1/_2$ Stunden, als die Temperatur 31° erreichte, wurde zum ersten Mal der Säurerecipient *B* gewechselt, sodann nach $3^1/_2$, $4^1/_2$ und 5 Stunden, und das übergegangene NH_3 titrirt. Während der fünfstündigen Destillationsdauer blieb die Temperatur auf 31 bis 32°.

Wir erhielten für die beiden Apparate folgende NH_3-Werthe.

	überdestillirtes NH_3 in Proc. ohne Kühler	mit Kühler
1. Nach den ersten $2^1/_2$ Stunden	48.72	62.37
2. In der folgenden Stunde	23.92	31.52
3. „ „ „ „	10.00	4.46
4. „ „ „ „	6.01	0.59

Die Destillation wurde nach 5 Stunden abgebrochen. Von dem NH_3 sind in dem Apparate ohne Kühler 89.55 Proc., in dem mit Kühler 98.94 Proc. überdestillirt. Von den 300 ccm der Flüssigkeit in dem Gefässe *A* sind im ersten Falle 245 ccm, im zweiten nur 140 ccm zurückgeblieben. Bei Anwendung des Kühlers geschieht daher die Verdampfung unvergleichlich rascher; dabei wird das Volumen der Flüssigkeit in dem Säurerecipienten *B* nicht vergrössert, da die Condensation des Wasserdampfes erst hinter dem Kühler in dem Gefässe *F* geschieht. Wir sehen auch hier, dass, ähnlich wie bei der Destillation unter dem Atmosphärendruck, die vollständige Verflüchtigung des NH_3 erst dann erreicht wird, wenn die grössere Hälfte der Flüssigkeit überdestillirt ist. Um sicher zu gehen, ist es daher zweckmässig, etwa $^2/_3$ der Flüssigkeit verdampfen zu lassen. Wir haben zu dem Zwecke das Destillationsgefäss *A* von 50 bis 300 ccm in Abständen von je 50 ccm kalibrirt, um das Quantum der abgedampften Flüssigkeit zu kennen. Da wir ferner empirisch ermittelt haben, dass, sobald die Temperatur des äusseren Bades *M* 35° erreicht hat, dann die Temperatur im Gefässe *A* 30° ist, so passen wir bei der Destillation nur darauf, dass die Temperatur des Bades *M* nicht mehr als 35 bis 37° beträgt, und erachten die Bestimmung als beendet, wenn ca. $^2/_3$ der Flüssigkeit aus dem Gefässe *A* verdampft sind. Beim Einhalten dieser Maassregel ergaben uns drei Controlbestimmungen mit der gleichen Salmiaklösung: 99.56 Proc., 99.8 Proc. und 100.27 Proc. von dem zugesetzten NH_3.

Von vornherein konnte man erwarten, dass in der gleichen Zeit ein kleineres Flüssigkeitsquantum relativ rascher als ein grösseres verdunsten wird, wenn auch, absolut genommen, im zweiten Falle das Quantum des verdunsteten Wassers ein grösseres sein muss. Auf die Verflüchtigung des Ammoniaks hat jedoch die Menge des übergegangenen Wassers keinen merklichen Einfluss. Wir haben in einem Versuche Rinderblut, das zwei Tage vorher dem Thiere entnommen war, in drei Partien zu je 100 ccm zu gleicher Zeit und an gleicher Pumpe und zwar in der Art destillirt, dass in Nr. I 100 ccm Blut ohne jeden Zusatz, in Nr. II 100 ccm Blut mit 100 ccm 2 proc. Magnesiaemulsion und in Nr. III 100 ccm Blut + 100 ccm Magnesiaemulsion + 100 ccm Wasser destillirt wurden. Als in Nr. I $^2/_3$ der Flüssigkeit übergingen, wurde die vorgelegte Schwefelsäure in allen drei Apparaten zurücktitrirt, hierauf neue Säure vorgelegt und die Destillation so lange fortgesetzt, bis aus Nr. I alles Wasser überdestillirte. Wir erhielten folgendes Resultat:

	Nr. I	Nr. II	Nr. III
Ursprüngliche Menge der Flüssigkeit	100 ccm	200 ccm	300 ccm
Zurückgebliebene Menge der Flüssigkeit	30 „	100 „	180 „
Verbrauchte $^1/_{20}$ n-Kalilauge in Cubikcentimeter zum Zurücktitriren der Schwefelsäure	1.95 „	1.8 „	1.98 „
Erhaltenes NH_3 in Milligramm für 100 ccm Blut	1.64 mg	1.51 mg	1.66 mg
Flüssigkeitsmenge bei fortgesetzter Destillation	0 (fester Rückstand)	65 ccm	150 ccm
Verbrauchte $^1/_{20}$ n-Kalilauge in Cubikcentimeter zum Zurücktitriren der Schwefelsäure	0.2 ccm	0.4 „	0.3 „
Erhaltenes NH_3 im Milligramm für 100 ccm Blut	0.17 mg	0.34 mg	0.25 mg
Total erhaltenes NH_3 in Milligramm für 100 ccm Blut	1.81 „	1.85 „	1.91 „

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich, ist, nachdem in Nr. I $^2/_3$ des Blutes abdestillirt sind, unabhängig von der Verdünnung auch in Nr. II und III die gleiche Menge NH_3 erhalten worden. Bei weiterem Destilliren, wobei in Nr. I das Blut bis zur Trockne verdampft wurde, sind noch minimale Mengen von NH_3 entwickelt worden. Diese Mengen sind beim Blute so gering, dass sie füglich vernachlässigt werden könnten. Anders war es bei unseren Versuchen mit den Organen, falls sie nicht zu ganz homogenem Brei verrieben wurden. Während das auf $^2/_3$ abdestillirte Blut bei weiterer Destillation bis zur Trockne nur Spuren von NH_3 entwickelte, so dass beim Zurücktitriren der vorgelegten Säure wir 0.1 ccm, höchstens 0.2 ccm der $^1/_{20}$ n-KOH weniger verbrauchten, waren es bei den auf $^1/_3$ abdestillirten Organemulsionen bei weiterer Destillation zur Trockne manchmal 4 ccm der $^1/_{20}$ n-KOH, die wir beim Zurücktitriren der Säure weniger verbrauchten. Dadurch wurden Differenzen erhalten, die am besten durch folgende Zahlen illustrirt werden.

Wir erhielten z. B. in 100 g des frischen Gewebes:

Aus Hundemuskel	11.54	und	12.31 mg	NH_3
„ „	8.80	„	10.60 „	„
„ Hundeleber	26.42	„	28.97 „	„

Die Ursache dieser Erscheinung liegt in dem nicht vollständigen Eindringen der Magnesia in das zerkleinerte Gewebe. Wir haben daher das zerhackte Gewebe noch durch die Fleischhackmaschine passiren lassen oder im Mörser mit mit Salzsäure ausgewaschenem und ausgeglühtem Meersand verrieben. Dadurch gelang es uns, die Differenzen in den Bestimmungen soweit zu beseitigen, dass für 50 g des Gewebes der Unterschied in der verbrauchten $^1/_{20}$ n-Kalilauge 1 ccm, höchstens 2 ccm betrug. Ein Uebelstand dabei besteht darin, dass, um allen Inhalt aus dem Mörser in das Gefäss *A* zu bringen, ziemlich viel Wasser zum Nachspülen nöthig ist und in Folge dessen die Destillation etwas länger dauert.

Wenn wir nun alles oben Gesagte resumiren, so ist unser jetziges Verfahren zur Bestimmung des NH_3 im Blute und den Geweben wie folgt:

Zur Destillation dient das conische dickwandige Gefäss *A* (siehe die Figur) von 1.5 bis 2 Liter Inhalt. Die obere Oeffnung hat 4 cm im Durchmesser, die untere 2 cm und sie sind zwecks luftdichten Verschlusses matt geschliffen. Die untere Oeffnung hat bei den Analysen zwar keine Bedeutung, erleichtert aber sehr die Reinigung des Gefässes nach dem Gebrauch und wird mit einem Kautschukkorke geschlossen.

Nachdem das Gefäss *A* in dem Wasserbade *M* passend befestigt worden, wird die obere Oeffnung mit einem doppelt durchbohrten Kautschukkorke geschlossen. Durch die eine Bohrung geht hindurch das Rohr des Scheidetrichters *D*, durch die andere das dreikugelige Ableitungsrohr *g*, das mittelst dickwandigen Kautschukschlauches mit dem Röhrchen *c* verbunden ist. Das Gefäss *B* von 17 mm Durchmesser und 42 cm Länge mit drei kugeligen Ausbuchtungen ist der Recipient für die titrirte Schwefelsäure. Der Recipient *B* wird ebenfalls mit einem doppelt durchbohrten Kork geschlossen, worin das Zuleitungsröhrchen *c* mit dem Hahn *b* und das Ableitungsröhrchen *d*, das durch dickwandigen Kautschukschlauch mit der Flasche *C* verbunden ist, stecken. Die Waschflasche *C* ist sodann mit dem Liebig'schen

Kühler und dieser mit der Reservoirflasche *F* verbunden. — *m* ist Manometer und mittelst des seitlichen Rohrs *k* ist die Flasche *F* und damit das ganze System mit der Wasserstrahlpumpe verbunden.

Die zu untersuchende Substanz — Blut oder Gewebe — wird, bis auf 0.1 g genau abgewogen, in das Gefäss *A* gebracht. Bei Analysen des Blutes, das nur wenig NH_3 enthält, nehmen wir nicht weniger als 100 g. Erheblich grössere Mengen zu nehmen, ist auch unpraktisch, da das Blut im Vacuum stark schäumt, was die Destillation verzögert, und ausserdem kann die Flüssigkeit leicht in das Gefäss *B* übersteigen. Von den Organen genügen 40 bis 50 g, die vorher möglichst fein mit gereinigtem Meersand verrieben werden; vom Harn verwendeten wir 20 bis 30 ccm, doch genügen auch viel kleinere Quantitäten. In das Gefäss *B* werden mittelst einer genau kalibrirten Pipette bei der Destillation des Blutes 10 ccm, bei der der Gewebe 20 ccm $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure gebracht, die nach Beendigung der

Fig. 24.

Destillation mit $^1/_{20}$ n-Kalilauge zurücktitrirt werden. Für Harn, je nach der genommenen Menge, sowie für ammoniakreichere Flüssigkeiten muss die SO_4H_2 und auch die KOH-Lauge entsprechend concentrirter sein.

Nachdem die einzelnen Theile des Apparates mit einander verbunden, wird zunächst die Luft evacuirt. Der Hahn *a* wird geschlossen, der Hahn *b* anfangs halb geöffnet, damit die rasch aufsteigenden Luftblasen in den Recipienten *B* nicht hinübergerissen werden; später wird er ganz geöffnet. Während des Evacuirens werden die Gummistöpsel in den Gefässen *A* und *B*, sowie eventuell die Kautschukverbindungen mit geschmolzenem Paraffin luftdicht gemacht. Man lässt Wasser durch den Kühler fliessen und auch das Reservoir *F* wird durch Schnee oder kaltes Wasser gekühlt. Zeigt das Manometer einen Druck von 15 bis 10 mm und passiren die Gasblasen durch den Recipienten *B* langsam, so wird der Hahn *b* geschlossen

und durch den Scheidetrichter *D* 50 ccm der 2 proc. Magnesiaemulsion hinzugegossen. Jetzt wird der Hahn *b* von Neuem geöffnet, und wenn die Gasentwickelung nachgelassen hat, beginnen wir mit dem Erwärmen des Wasserbades *M*. Die Steigerung der Temperatur muss, namentlich bei der Destillation des Blutes, sehr langsam geschehen, zwei bis vier Stunden, bis sie 35° erreicht hat, und die ganze Zeit auf 35 bis 37° gehalten werden. Sind etwa zwei Drittel der Flüssigkeit aus dem Gefässe *A* überdestillirt, was im Ganzen etwa fünf bis sechs Stunden beansprucht, so kann die Destillation als beendet betrachtet werden. Zunächst wird die Kautschukverbindung zwischen dem Gefässe *C* und dem Kühler *L* mittelst Klemmschraube geschlossen. Ebenso der Hahn *b* und durch den Hahn *a* wird in das Gefäss *A* Luft hineingelassen. Hierauf wird die Kautschukverbindung zwischen *g* und *c* losgelöst und durch vorsichtiges Oeffnen des Hahnes *b* die Luft in *B* und *C* hineingelassen. Hierbei kann es passiren, dass durch zu rasches Oeffnen des Hahnes *b* die Luft so heftig in *B* eindringt, dass ein Theil der Säure nach *C* hinübergeschleudert wird. Sind *B* und *C* mit Luft gefüllt, so wird der Inhalt dieser beiden Gefässe in ein Becherglas gegossen, die Wände sorgfältig mit Wasser nachgespült und die Säure zurücktitrirt. Als Indicator empfehlen wir die Mischung von Lacmoid mit Malachitgrün. — 10 g Lacmoid werden in 150 ccm Alkohol gelöst, filtrirt und zu dem Filtrate 10 bis 15 ccm einer Lösung von 1 g Malachitgrün in 50 ccm Alkohol hinzugesetzt. — Bei den minimalen Mengen von NH_3, um die es sich hier handelt, ist die absolute Reinheit der Reagentien selbstverständlich und sind das verwendete destillirte Wasser, sowie die Magnesia vor ihrem Gebrauche auf den eventuellen Gehalt an NH_3 genau zu prüfen; aber auch die Reinheit der Gefässe und der Laboratoriumsluft muss nicht ausser Acht gelassen werden. Das Blut und die Organe müssen in einigen Stunden nach der Verblutung des Thieres verarbeitet werden. Wiederholt haben wir gesehen, dass das Blut und die Gewebe schon nach 24 stündigem Aufbewahren selbst in der Kälte einen etwas höheren NH_3-Gehalt als Tags vorher zeigten. Da wo bei einer Reihe von Bestimmungen wir nicht alle am selben Tage ausführen konnten, haben wir weniger zersetzliche Organe, wie Muskel, Milz, Nieren, mit Salicylsäure bestreut und auf Eis bis zum nächsten Tage aufbewahrt. Wie oben angegeben, wird aus dem Blute bei der Destillation vermöge seines Alkaligehaltes auch ohne Magnesiazusatz alles NH_3 ausgetrieben. Es ist hierbei zweckmässig, das Blut mit dem halben Volumen Wasser zu verdünnen, wodurch das Schäumen sehr vermindert wird. Bei den Organen ist die Herstellung einer möglichst dünnbreiigen Emulsion durch Verreiben mit Sand nothwendig. Für 50 g des Gewebes genügen hierzu etwa 200 g Wasser, was mit dem nachherigen Zusatz von 50 g 2 proc. Magnesiaemulsion 300 g Flüssigkeit ausmacht. Harn wird mit dem drei- bis fünffachen Volumen Wasser verdünnt.

Dass das im Vacuum entweichende Alkali wirklich Ammoniak ist, davon haben wir uns durch directen Versuch überzeugt. Eine aus dem Blute und den Organen zweier Hunde zurücktitrirte schwefelsaure Lösung sollte der Titration zu Folge 0.1958 g NH_3 enthalten. Diese Lösung wurde mit überschüssiger Kalilauge destillirt, das Destillat in Salzsäure aufgefangen, die salzsaure Lösung auf dem Wasserbade verdunstet und mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Der abgeschiedene

Platinsalmiak wurde mit Aetheralkohol nachgewaschen, getrocknet und geglüht. Das Gewicht des erhaltenen Platins war = 1.0647 g, entsprechend 0.1866 g NH_3. Demnach konnte das verflüchtigte Ammoniak nur minimale Mengen höherer Homologe — vielleicht Methyl- und Trimethylamin — enthalten.

Nach diesem verbesserten Verfahren wurden von dem Einen von uns (Z.) gemeinschaftlich mit Dr. W. Horodyński eine grosse Anzahl von NH_3-Bestimmungen im Blute der verschiedenen Gefässbezirke und den Organen unter den verschiedensten Ernährungsverhältnissen bei Hunden ausgeführt und soll eine ausführliche Mittheilung der erhaltenen Resultate demnächst veröffentlicht werden[1]. Gewöhnlich wurde das Blut zuerst aus der Art. femoralis, hierauf aus der Pfortader und ihren Aesten, dann noch aus anderen Gefässen entnommen und schliesslich liessen wir das Thier aus der Arterie verbluten. Im Mittel aus 15 Bestimmungen erhielten wir, mit geringen Schwankungen, wenn das Blut, wie eben angegeben, entnommen wurde, für das arterielle Hundeblut 0.35 mg und für das Pfortaderblut 1.45 mg für 100 g Blut. Wurde das arterielle Blut gegen Ende der Verblutung entnommen, so enthielt es, offenbar in Folge der Auswaschung der Organe, stets etwas mehr NH_3 — im Mittel 0.52 mg. — Das Pfortaderblut enthält daher 2.8 bis 4 mal mehr NH_3 als das arterielle. — Für die einzelnen Organe wurden dagegen bei der Destillation mit Magnesia ziemlich die gleichen Werthe wie früher mit Kalk erhalten. Den höchsten NH_3-Gehalt ergab auch jetzt die Magenschleimhaut, dann die Darmschleimhaut, die Leber und das Pankreas, und es fragt sich, warum gerade im Blute die grössten Differenzen bei der Destillation mit Kalk resp. Magnesia erhalten wurden. Es müssen im Blute Stoffe vorhanden sein, die nur ein wenig beständiger als das carbaminsaure Ammoniak sind. So zersetzt sich z. B. nach R. Breuer[2] das freie Chitosamin schon in wässeriger Lösung ungemein rasch unter Abspaltung von NH_3. Wie schon Eingangs erwähnt, spalten auch Eiweissstoffe in alkalischer Lösung bei der Bruttemperatur unter Sauerstoffabsorption Ammoniak ab. Wir haben gemeinschaftlich mit Herrn Popow die früheren Versuche hierüber von Nencki und Sieber[3] mit reinem krystallisirtem Serumalbumin, mit Serumglobulin und dem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut wiederholt.

Die Ermittelung des absorbirten Sauerstoffs geschah, wie in früheren Versuchen, durch Bestimmung des Sauerstoffs in der mit der Eiweisslösung miteingeschlossenen Luft. Die Eiweisslösungen wurden in eine starkwandige Flasche, von der Form wie die Flasche *F* in unserer Zeichnung, nur ohne das seitliche Ansatzrohr *k*, von genau bekanntem Inhalt (etwa 2 Liter) gebracht. Der Hals der Flasche wurde mit einem doppelt durchbohrten Kautschukkorke geschlossen. In der einen Bohrung befand sich das Ableitungsröhrchen, in der anderen ein dünnwandiges, in die Flasche hineinragendes Glasrohr, unten offen, oben spitz ausgezogen, durch welches nach Beendigung des Versuches in die Flasche Quecksilber hineingegossen wurde. Nach Zusatz einer abgewogenen Menge des festen Kalihydrats zu der Flüssigkeit wurde der Kautschukkork aufgesetzt und in die Erweiterung des Flaschenhalses, zwecks

[1] Siehe nachfolgende Arbeit.
[2] Ber. **31**, 2195 (1898).
[3] Journ. f. prakt. Chem. **26**, 6 (1882). — Nencki's Opera omnia **1**, 647.

luftdichten Verschlusses, Quecksilber gegossen. Nach etwa einer Stunde, als der Flascheninhalt die Temperatur des Zimmers angenommen, haben wir die Temperatur und den Barometerstand notirt, das Ende des Ableitungsrohrs zugeschmolzen, und jetzt liessen wir die Flaschen drei bis sechs Wochen lang im Thermostaten bei 37° stehen, wobei sie zeitweise besichtigt und ihr Inhalt umgerührt wurde. Nach beendigter Versuchsdauer wurde die Luft durch Eingiessen von Quecksilber durch das dünnwandige Glasrohr — die Spitze des Glasrohrs wurde mit Kautschukschlauch überzogen und nach Eingiessen des Quecksilbers in den Schlauch unter Quecksilber abgebrochen; ebenso wurde die Spitze des Ableitungsrohrs unter Eudiometer abgebrochen — aus der Flasche herausgetrieben und in einem genau abgemessenen Volumen der Gehalt an Sauerstoff durch alkalische Pyrogallollösung bestimmt.

Relativ die grösste Menge Sauerstoff absorbirte das umkrystallisirte Oxyhämoglobin aus Pferdeblut — 250 ccm der Lösung, die 7.5675 g Hämoglobin und 2 g KOH oder 3.027 Proc. Hämoglobin und 0.8 Proc. KOH enthielt, absorbirten nach 49 Tagen 0.2939 g Sauerstoff oder 3.88 Proc. vom Gewichte des Hämoglobins. — Die gleiche Menge der Lösung mit 5 g KOH, also 3.027 Proc. Oxyhämoglobin und 2.0 Proc. KOH, absorbirten nach gleicher Zeitdauer 0.3866 g oder 5.10 Proc. Sauerstoff. — Die miteingeschlossene Luft = 1573 ccm enthielt am Ende des Versuches nur 3.7 Proc. Sauerstoff.

200 ccm einer 1.83 proc. Lösung von krystallinischem Serumalbumin + 1.5 KOH absorbirten während 21 Tagen 0.0961 g Sauerstoff = 1.9 Proc. vom Gewichte des Eiweisses in 0.75 proc. Kalilösung.

200 ccm der gleichen Lösung + 5 g KOH absorbirten in der gleichen Zeit 0.07784 g Sauerstoff oder 2.12 Proc. in 2.5 proc. Kalilösung.

300 ccm einer 1.726 proc. Serumglobulinlösung + 2 g KOH absorbirten während 24 Tagen 0.0600 g Sauerstoff oder 1.14 Proc. vom Gewichte des Globulins in 0.66 proc. Kalilösung.

300 ccm der gleichen Lösung + 6 g KOH absorbirten in der gleichen Zeit 0.0941 g Sauerstoff = 1.8 Proc. in 2 proc. Kalilösung.

350 ccm einer 1.66 proc. Lösung von Serumglobulin + 17.5 g KOH verblieben im Thermostaten 29 Tage. Die Menge des absorbirten Sauerstoffs war = 0.1400 g oder 2.4 Proc. vom Gewichte des Globulins in 5.0 proc. Kalilösung.

In diesem Versuche wurde die Menge des vorhandenen Ammoniaks vor Beginn und am Schlusse des Versuches nach unserer Methode bestimmt. Wir erhielten folgende Werthe:

	Erhaltenes NH_3 in Milligrammen für 100 g der Lösung
1. Globulinlösung nur mit MgO destillirt	1.50
2. „ mit 5.8 Proc. Kali	5.63

Nach 29 tägigem Stehen im Thermostaten:

3. Destillation mit MgO (die alkalische Lösung wurde vorher mit SO_4H_2 schwach sauer gemacht)	28.5
4. Destillation, ohne vorher das Alkali zu neutralisiren	38.2

Wir brauchen kaum zu erwähnen, dass eine Betheiligung der Spaltpilze an der Sauerstoffabsorption in diesen Versuchen ganz ausgeschlossen war. Abgesehen

davon, dass alle Gefässe vorher sterilisirt und die Eiweisslösungen durch Chamberlandkerzen direct in die Absorptionsflaschen hineinfiltrirt wurden, würde schon der Alkaligehalt der Lösungen das Wachsthum der Bacterien hindern. — Die Lösungen waren in der That nach Beendigung der Versuche vollkommen klar und geruchlos und erwiesen sich bei Ueberimpfungen als steril. Die alkalischen Eiweisslösungen, mit verdünnter Essigsäure neutralisirt, gaben geringe Niederschläge, die Filtrate davon gerannen nicht beim Kochen, gaben die Biuretreaction und durch Fällung mit $SO_4(NH_4)_2$ resp. Alkohol konnten darin Proto- und Deuteroalbumosen in reichlicher Menge nachgewiesen werden. Krystallinische Producte waren darin nicht vorhanden. Auch die Oxyhämoglobinlösungen, die nach Beendigung des Versuches dunkelbraun gefärbt waren und spectroskopisch das Absorptionsband des Hämatins in alkalischer Lösung zeigten, enthielten Proto- und Deuteroalbumosen, gaben Biuretreaction, aber krystallinische Spaltungsproducte haben wir in den Lösungen nicht gefunden.

Wenn wir uns noch vergegenwärtigen, dass nach einem früheren Versuche von Nencki und Sieber[1]) Eiereiweiss in 0.5 proc. Sodalösung ebenfalls Sauerstoff absorbirt, so könnten die minimalen Mengen des NH_3 im arteriellen Blute einer Autooxydation der Proteïnstoffe ihren Ursprung verdanken. Nach unserer Ansicht stammt jedoch das NH_3 des Blutes aus dem Stoffwechsel der Gewebe, d. h. der Muskel und der drüsigen Organe ab, ganz besonders aber von den chemischen Processen in der Magen- und Darmschleimhaut, und darin ist hauptsächlich die Ursache für den drei- bis viermal höheren NH_3-Gehalt der Pfortader zu suchen. Natürlich kommt hier auch das in dem Darminhalt gebildete NH_3 in Betracht. Ausser dem NH_3, das im Blute wohl nur als Carbaminsäure vorkommt, müssen darin noch leicht zersetzbare Stoffe enthalten sein, die nicht durch Magnesia, aber durch überschüssiges Kalkwasser bei der Bruttemperatur unter Freiwerden von NH_3 sich zersetzen.

Ueber die Vertheilung des Ammoniaks im Blute und den Organen normaler und hungernder Hunde

von

W. Horodyński, S. Salaskin und **J. Zaleski.**

Zeitschr. f. physiolog. Chemie **35**, 246. — Referirt von den Herausgebern.

Mit der verbesserten Methode der Ammoniakbestimmung von Nencki und Zaleski[2]), bei welcher zum Freimachen des Ammoniaks statt Kalkwasser Magnesia benutzt wird, haben die Verfasser die früheren Bestimmungen im Arterien-, Venen- und Pfortaderblut, sowie in verschiedenen Organen hungernder und normaler Hunde, sowie solcher Thiere, welche per os Ammoniaksalze (Chlorammonium und Ammoniumcitrat) erhalten hatten, wiederholt.

[1]) l. c., S. 10. — Nencki's Opera omnia **1**, 650.
[2]) Siehe vorhergehende Arbeit.

Tabelle I.

Ammoniakgehalt (in Milligrammen ausgedrückt) in 100 g Blut resp. Organen bei in der Verdauungsperiode befindlichen Hunden.

Bezeichnung der Blutsorte und der Organe	I	II	III	IV	V	VI	VII	Mittelwerthe bei normalen Hunden
A. cruralis, 1. Portion	0.65	0.36	0.21	0.43	0.60	—	0.30	0.41
„ „ 2. „	—	0.51	0.35	—	—	—	0.28	
V. portae, 1. „	1.34	2.28	—	1.57	2.44	1.98	1.01	1.85
„ „ 2. „	—	2.14	—	—	2.28	—	1.07	
„ „ 3. „	—	1.89	—	—	2.43	—	—	
V. pancreatico-duod.	0.83	—	1.08	—	—	2.57	—	1.49
V. iliaca comm.	—	—	—	0.70	—	—	—	0.70
Leber, 1.	18.38	21.10	26.42	24.34	20.87	28.79	—	23.27
„ 2.	18.15	18.13	28.97	24.44	—	—	—	
„ 3.	19.70	—	30.00	-	—	—	—	
Muskeln, 1.	12.31	13.88	10.46	10.68	—	—	—	12.94
„ 2.	11.54	—	—	8.80	—	—	—	
Pankreas	—	—	15.51	27.75	—	15.10	30.02	22.09
Gehirn	—	10.55	14.39	13.52	9.27	12.04	—	11.95
Milz	—	—	—	14.17	14.78	16.01	13.36	14.58
Nieren	—	—	—	—	—	16.44	13.15	14.79
Magenschleimhaut	28.61	50.83	41.28	37.27	39.08	40.04	28.35	36.49
Darmschleimhaut	—	—	—	—	34.46	30.39	—	32.42
Mageninhalt	—	—	—	—	—	19.58	19.95	19.76
Darminhalt	—	—	—	—	—	26.44	—	26.44
Gewicht der Hunde	20.1 kg	10.4 kg	38.5 kg	13.7 kg	16.0 kg	45.8 kg	22.0 kg	
Zeitpunkt der Operation nach der Nahrungsaufnahme	7 St.	$6^1/_2$ St.	$5^1/_2$ St.	5 St.	$4^1/_2$ St.	5 St.	5 St.	

Anmerkung. In Versuch II, III und VII wurde die 1. Portion aus der A. cruralis vor der Narkose, die 2. Portion aber gegen Ende der ganzen Operation entnommen.

In Versuch II, V und VII wurde das Blut der V. portae in nach einander entnommenen Portionen analysirt.

Für Leber und Muskeln wurden in einigen Fällen Parallelbestimmungen ausgeführt. Die Nahrung bestand aus Fleisch und Hafersuppe.

Tabelle II.

Ammoniakgehalt bei hungernden Hunden.

Bezeichnung der Blutsorte und der Organe	VIII	IX	X	XI	Mittelwerth bei hungernden Hunden	Mittelwerth bei normalen Hunden
	Hungertage					
	$5^1/_2$	8	10	8		
A. cruralis	0.24	0.46	0.41	0.57	**0.42**	0.41
V. portae	1.41	1.38	0.75	1.61	**1.29**	1.85
V. mesent. sup.	0.87	1.19	—	1.35	**0.95**	—
V. iliaca comm.	0.52	0.77	1.05	0.86	**0.80**	0.70

Bezeichnung der Blutsorte und der Organe	VIII	IX	X	XI	Mittelwerth bei hungernden Hunden	Mittelwerth bei normalen Hunden
	Hungertage					
	$5^1/_2$	8	10	8		
Leber	7.01	10.63	23.59	28.81	**17.51**	23.27
Muskeln	14.54	—	12.13	16.42	**14.36**	12.94
Pankreas	14.55	16.99	26.64	28.61	**21.20**	22.09
Gehirn	7.86	14.18	9.95	12.76	**11.19**	11.95
Milz	13.90	18.49	21.06	23.94	**19.45**	14.58
Nieren	12.71	17.86	16.29	13.42	**15.07**	14.79
Magenschleimhaut	21.65	27.83	37.78	29.09	**29.09**	36.49
Darmschleimhaut	16.78	19.12	20.51	18.45	**18.72**	32.42
Gewicht der Hunde am Tage des Versuches	18.6 kg	31.2 kg	15.5 kg	20.5 kg		

Anmerkung. In Versuch VIII, IX und X absolute Inanition, in Versuch XI wurde während der Hungerperiode Wasser gegeben.

Tabelle III.

Ammoniakgehalt nach Eingabe von Ammoniaksalzen.

Bezeichnung der Blutsorte und der Organe	XII	XIII	XIV	XV	Mittelwerth	Mittelwerth bei normalen Hunden
Menge des eingegebenen Ammoniaks in Gramm	4.37	4.37	4.76	6.35	—	—
Zeitpunkt der Operation nach der NH_3-Eingabe	$2^3/_4$ St.	$6^1/_4$ St.	6 St.	13 St.	—	—
A. cruralis	0.46	0.31	0.36	0.56	**0.42**	0.41
V. portae	1.78	0.90	0.63	1.22	**1.13**	1.85
A. gastro-epiploica	0.77	0.67	0.42	0.82	**0.67**	—
V. mes. sup.	0.83	0.85	0.23	1.11	**0.76**	—
Leber	9.29	22.19	15.50	31.20	**19.55**	23.27
Muskeln	16.69	12.82	9.70	13.75	**13.24**	12.94
Gehirn	15.34	13.94	11.94	16.83	**14.51**	11.95
Milz	19.67	17.23	—	—	**18.45**	14.58
Magenschleimhaut	46.35	33.98	30.26	29.97	**35.14**	36.49
Darmschleimhaut	23.75	—	26.31	16.88	**22.31**	22.42
Mageninhalt	41.01 concentr.	11.65	108.5 concentr.	131.4	—	19.76
Darminhalt	27.98	45.77	23.26	54.51	**37.88**	26.44
Gewicht der Hunde	22 kg	20 kg	6 kg	33 kg		

Anmerkung. Das Ammoniak in Versuch XII, XIII als citronensaures, in Versuch XIV, XV als Ammoniumchlorat eingegeben. Ausserdem erhielten die Hunde noch Fleisch und Hafersuppe. In Versuch XIV kam in dem nach der Operation aus der Harnblase entleerten Harn von dem gesammten Stickstoff auf das Ammoniak 10 Proc.; in Versuch XV 18.97 Proc.

In Versuch XII und XV erwies sich die im Recipienten enthaltene Schwefelsäure als nicht genügend, um sämmtliches NH_3 des Mageninhaltes zu binden.

In Versuch XIV enthielt der Magen 850 g, die Därme 100 g, in Versuch XV der Magen 950 g, der Dünndarm 130 g.

Schlussfolgerungen vom Verfasser sind folgende:

1. Der Ammoniakgehalt des arteriellen Blutes ist ein sehr constanter, von den Versuchsbedingungen ganz unabhängiger. Im Pfortaderblute war der Ammoniakgehalt stets drei- bis fünfmal grösser als im Arterienblute.

2. Der Umstand, dass bei Anwendung von Kalkwasser anstatt Magnesia im Blute grössere Ammoniakwerthe gefunden werden, spricht für das Vorhandensein von Körpern, welche leicht Ammoniak abgeben. Solcher Körper enthält unter normalen Verhältnissen, nach den Analysen mit Kalkwasser zu urtheilen, das Pfortaderblut mehr als das Arterienblut. Hier verdient noch erwähnt zu werden, dass das Arterienblut von Venenfistelhunden (Eck'sche Fistel) in der Intoxicationsperiode in dieser Beziehung sich mit dem Pfortaderblut nährt.

3. Der Ammoniakgehalt in den Organen, namentlich im Gehirn, ist ein ziemlich constanter; eine Ausnahme bilden die Drüsen, deren Thätigkeit von dem Stande der Verdauung abhängt und in denen in Folge dessen der Ammoniakgehalt ein wechselnder ist.

4. Zieht man den eben erwähnten constanten Ammoniakgehalt im Gehirn, welcher im Mittel 11.95 mg pro 100 g beträgt, in Betracht, so erweist sich, dass er im Gehirn von Hunden mit Eck'scher Fistel erhöht ist. So fanden Nencki, Pawlow und J. Zaleski[1]) im Gehirn von Venenfistelhunden, die in der Intoxicationsperiode zu Grunde gegangen waren, 20.9 mg pro 100 g, Lundberg[2]) 31.0 mg, Salaskin[3]) 31.0, 21.09, 44.56 mg.

5. Im Hunger steigt der Ammoniakgehalt der Gewebe und Organe, das Gehirn ausgenommen, an, wobei der Grad der Ammoniakbereicherung von der Dauer des Hungerzustandes direct abhängt; der Zerfall des Organeiweisses, welches im Hunger verbraucht wird, geht also mit Ammoniakabspaltung Hand in Hand.

Der zweite Theil der Arbeit rechtfertigt die Ansichten der Petersburger Schule gegen die Einwände von Biedl und Winterberg[4]).

[1]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **37**, 44. — Dieser Band S. 542.

[2]) Inaug.-Diss. — Dieser Band S. 571.

[3]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. **25**, 481. — Dieser Band S. 637.

[4]) Pflüger's Archiv **88**, 140.

Ueber die Bildung von Harnsäure in der Leber der Vögel

von

K. Kowalewski und S. Salaskin.

Zeitschr. f. physiol. Chemie **33**, 210. — Nach dem Referate von A. Ellinger. Centralbl. f. Physiol. **15**, 420.

Der Befund, dass bei entleberten Gänsen die Harnsäure fast vollständig aus dem Harn verschwindet und dafür milchsaures Ammoniak erscheint, hat Minkowski zu der Annahme geführt, dass bei den Vögeln die Harnsäure synthetisch aus milchsaurem Ammoniak entsteht und dass zum Zustandekommen dieser Synthese die Leberfunction erhalten sein muss.

Die Verfasser haben die weitere Frage zu entscheiden gesucht: Bildet sich die Harnsäure direct in den Leberzellen oder behindert nur die Leberentfernung die Harnsäurebildung in anderen Organen? Sie haben dazu Durchblutungsversuche an Gänselebern angestellt und die Harnsäure im Blut nach 5-, 15- und 25 maligem Durchleiten des Blutes durch die Leber bestimmt, erst ohne Zusatz, dann mit Zusatz von milchsaurem Ammon, schliesslich von Arginin.

Die Bestimmung der Harnsäure geschah theils nach Salkowski-Schröder, theils nach Hopkins. Die letztere Methode erwies sich als die genauere.

Die Resultate giebt folgende Tabelle:

Nummer d. Versuchs	Zusatz zum Blut	Gewicht der Leber g	Menge des Blutes ccm	Menge d. Harnsäure in 100 ccm Blut					Methode der Bestimmung	Ursprüngliche Menge d. Harnsäure g	Absolute Zunahme g
				Nach 5 maligem Durchleiten	Nach 15 maligem Durchleiten	Proc. Zunahme	Nach 25 maligem Durchleiten	Proc. Zunahme			
I.	ohne	50	925	0.0158 0.0130 Mittel 0.0144	0.0175 0.0193 Mittel 0.0184	27.8	0.0205 0.0197 Mittel 0.0201	39.5	Salkowski-Schröder	0.1322	0.0379
II.	ohne	122	920	0.0150	0.0210	40.0	0.0220	46.6	Hopkins	0.1380	0.0564
III.	1 g milchsaures Ammon.	60	1025	0.0189 0.0139 Mittel 0.0164	0.0240 0.0284 Mittel 0.0262	59.8	0.0426 0.0404 Mittel 0.0415	151.2	Salkowski-Schröder	0.1681	0.2377
IV.	„	50	950	0.0122	0.0181	48.3	0.0270	121.3	„	0.1159	0.0987
VI.	1,1 g salzsaures Arginin	81	990	0.0100	0.0250	150	0.0308	208	Hopkins	0.0770	0.1336

Daraus geht hervor, dass „die Leber direct Antheil an der Bildung der Harnsäure nimmt, und zwar als Ort der Synthese letzterer Säure, wobei als Material zur Synthese nicht nur milchsaures Ammonium, resp. Ammoniumsalze organischer Säuren, sondern auch zusammengesetzte Körper, wie z. B. Arginin, dienen können".

Die grosse Ammoniakausscheidung bei entleberten Gänsen (und Hunden) ist veranlasst durch die Erhöhung des Säuregehaltes im Organismus und kann, wie auch Lang gezeigt hat, durch gleichzeitige Sodazufuhr gemindert werden, ohne dass die Harnsäureausscheidung dann vermehrt würde.

Amidosäuren werden bei entleberten Gänsen und Hunden nicht als Harnsäure bzw. Harnstoff ausgeschieden, sondern unter Bildung von Ammoniak zerlegt, aber wohl nicht, wie Lang annimmt, damit sie die vermehrte Säure im Organismus neutralisiren. Denn beim Hunde mit Eckscher Fistel, bei welcher keine Säureanhäufung im Organismus stattfindet, wird das Glycocoll ebenfalls unter Bildung von Ammoniak zerlegt (Salaskin).

Der Ammoniakgehalt des Blutes normaler Gänse wurde fast zehnmal so hoch gefunden wie bei Säugethieren, entsprechend dem hohen Milchsäuregehalt, den Sayto und Katsuyama bei normalen Hühnern fanden. Es werden Milchsäure- und Ammoniakbestimmungen in Aussicht gestellt am Blute solcher Gänse, deren Ammoniakausscheidung durch Sodagaben vermindert ist.

Ueber die quantitative Harnstoffbestimmung mittelst Halogenwasserstoffsäuren

von

S. Stankiewicz.

Inaug.-Dissertation, Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. hat eingehender die Zersetzbarkeit des Harnstoffs in zugeschmolzenen oder dicht geschlossenen Röhren untersucht. In reinen wässerigen Lösungen wird der Harnstoff bei 3- bis $4^1/_2$ stündigem Erwärmen bei 135 bis 140° in einer Menge von 30 bis 40 Proc. zersetzt. Zusatz von HCl oder HBr beschleunigt diese Zersetzung. Jodwasserstoffsäure hat sich in Folge Sublimirung des Jods bei der Destillation als unbrauchbar erwiesen. Diese Zersetzung wird bei Anwendung von bestimmten Mengen Säure fast vollständig, namentlich wenn molekulares Verhältniss des Harnstoffs zur Säure in Grenzen von 1 : 2 bis 1 : 6 eingehalten wird. Bei Anwendung grösserer Menge von Säure werden kleinere Mengen Harnstoff zersetzt. Amidosäuren werden bei diesem Verfahren nicht zersetzt, Kreatin nur spurenweise.

Diese Methode hat Verf. zur Harnstoffbestimmung im Harn angewendet. Auch hierbei hat sich erwiesen, dass man das obige Verhältniss der Säure zum Harnstoff einhalten soll. Deshalb muss man das specifische Gewicht des Harns in Rücksicht

nehmen. Wie Controlversuche gezeigt haben, ist es rathsam, auf 5 ccm Harn vom spec. Gew. 1.010 1 ccm HBr (1.189) und 0.5 ccm HCl (1.124) anzuwenden. Nach der beendeten Zersetzung wird der Rohrinhalt aus einem Kolben mit MgO in titrirte Schwefelsäure destillirt. Dieses Verfahren ist nicht anwendbar, wenn im Harn Eiweiss vorhanden ist.

Beiträge zur Kenntniss der gechlorten Oxyketone der aromatischen Reihe

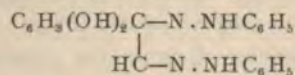
von

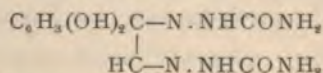
H. Bruhns.

Inaug.-Dissertation, Petersburg. — Referirt von den Herausgebern.

Auf Veranlassung von Prof. Nencki untersuchte Verf. die Condensationen von Phenolen mit di- und trihalogensubstituirten Fettsäuren. Trichloressigsäure gab keine positiven Resultate; sie zersetzte sich während der Reaction auf CO_2 und $CHCl_3$. Mit Dichloressigsäure wurden nur Brenzcatechin und Pyrogallol zu Oxyketonen condensirt; bei anderen Phenolen erhielt man entweder harzige Producte oder unveränderte Phenole. Als Condensationsmittel bei Dichloressigsäure ist das Chlorzink vorzuziehen, damit bekommt man eine grössere Ausbeute (10 bis 25 Proc. der Theorie). Phosphoroxychlorid wirkt schwächer und die Ausbeute ist noch kleiner. Im Allgemeinen condensiren sich die Phenole mit Dichloressigsäure viel schwerer, als mit monochlorsubstituirten Fettsäuren. Allzu langes Erwärmen, oder allzu hohe Temperatur, die nie 150° übersteigen soll, bedingen die Verharzung der Producte. Vortheilhafter ist es auch, mit kleineren Portionen zu arbeiten und auf zwei Theile Phenol drei Theile Dichloressigsäure und drei Theile Chlorzink anzuwenden.

Dichloracetobrenzcatechin, $C_6H_3(OH)_2CO.CHCl_2$, aus Benzol umkrystallisirt; prismatische Blättchen; Schmelzp. 112°; leicht löslich in Wasser, Alkohol und Aether; schwerer löslich in Benzol. Seine wässerige Lösung zeigt saure Reaction; mit Eisenchlorid giebt die Lösung grüne Färbung; auf Eisenbeize färbt sie die Gewebe dunkelgrün, auf Thonerdebeize aber hellgelb. Phenylhydrazon

$$\begin{array}{l} C_6H_3(OH)_2C{-}N.NHC_6H_5 \\ \qquad\qquad\;\; | \\ \qquad\quad\;\; HC{-}N.NHC_6H_5 \end{array}$$

dieses Ketons krystallisirt aus Methylalkohol in gelben Nadeln, die bei 153° schmelzen; leicht löslich in Methyl- und Aethylalkohol und Aether. Analog entsteht auch das Semicarbazon,

$$\begin{array}{l} C_6H_3(OH)_2C{-}N.NHCONH_2 \\ \qquad\qquad\;\; | \\ \qquad\quad\;\; HC{-}N.NHCONH_2 \end{array}$$

mit einem Molekül Krystallwasser.

Dichloracetopyrogallol, $C_6H_2(OH)_3CO.CHCl_2$, dargestellt nach obigem Verfahren, krystallisirt in mikroskopischen rhombischen Säulen. Schmelzpunkt 165

bis 166°; sehr leicht löslich in Aether, Alkohol, Benzol und Amylalkohol, schwer löslich in Chloroform. Seine wässerige Lösung hat saure Reaction und färbt gebeizte Gewebe. Aus dem Keton wurde auch Phenylhydrazon dargestellt. Die Krystalle waren gelb gefärbt und schmolzen bei 235°.

Die Versuche, Chloratome in den Oxyketonen durch Hydroxylgruppen zu ersetzen, fielen negativ aus.

Beiträge zur Kenntniss des Magensaftes und der chemischen Zusammensetzung der Enzyme

von

M. Nencki und **N. Sieber.**

Zeitschr. f. physiol. Chemie **32**, 291; der Redaction zugegangen am 1. März 1901. — Arch. des Sciences biol. **9**, 47. — Gazeta Lekarska (1901), Nr 17 bis 20.

Man kann sagen, dass erst seit der Arbeit von Professor J. Pawlow und Frau Dr. Schumow-Simanowski[1]), welche zeigten, dass von gastro- und ösophagotomirten Hunden bei der Scheinfütterung reflectorisch reiner Magensaft in grossen Mengen abgesondert wird, ein wirklich reiner, von allen fremden Beimischungen freier Saft in beliebig grossen Quantitäten erhalten werden kann. Kurz nach der Veröffentlichung der Arbeit von Pawlow und Schumow-Simanowski hat die Letztere den so gewonnenen Saft in unserem Laboratorium einer chemischen Analyse unterworfen[2]). Sie benutzte dabei die Beobachtung, dass solcher Magensaft, auf 0° abgekühlt, einen amorphen, körnigen Niederschlag bildet, um das wirksame Princip durch einfache Filtration bei niedriger Temperatur aus dem Magensafte zu isoliren. Ausser den verschiedenen Analysen des frischen Saftes hat Frau Schumow-Simanowski auch diesen körnigen Niederschlag, der Eiweissstoffe energisch verdaut und den sie auf Grund ihrer Untersuchung als das wirksame Enzym resp. Gemisch der Enzyme des Magensaftes angesehen hat, analysirt und gefunden, dass dieser Niederschlag aus einem eigenthümlichen chlorhaltigen Eiweisskörper besteht. In der Asche desselben hat sie neben minimalen Mengen von Eisen auch Phosphorsäure nachgewiesen. Zu welcher Gruppe der Eiweisskörper dieses sogenannte körnige Pepsin gehört, hat sie nicht näher bestimmt und wurde leider durch Krankheit an der Fortsetzung ihrer Untersuchung verhindert. Obgleich wir, durch die Publication von Pekelharing[3]) und Hammarsten[4]) angeregt, uns wiederholt vorgenommen haben, die Untersuchung über die Enzyme des Magensaftes wieder

[1]) Wratsch, 1890, Nr. 41.
[2]) Archiv f. exper. Path. u. Pharm. **33**, 336. — Dieser Band S. 370.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **22**, 233.
[4]) Dessen Lehrbuch der physiol. Chem., S. 264, 4. Aufl., 1899.

aufzunehmen und uns reiner Magensaft leicht zugänglich war, konnten wir, durch andere Arbeiten in Anspruch genommen, erst im Herbst des Jahres 1899 an die Ausführung unseres Vorhabens herantreten.

Bevor wir zur Beschreibung unserer eigenen Versuche und deren Resultate übergehen, halten wir es für zweckmässig, des leichteren Verständnisses wegen, die Ergebnisse der Pekelharing'schen Arbeit kurz zu recapituliren.

Pekelharing extrahirte Fundusmucosa von Schweinemägen mit 0.2 proc. HCl, filtrirte unter vermindertem Druck und dialysirte das Filtrat im Pergamentschlauch gegen strömendes Leitungswasser 15 bis 20 Stunden lang. Dadurch sank der Säuregrad des Schlauchinhalts auf etwa 0.02 Proc., die Flüssigkeit wurde trübe von suspendirtem Niederschlag, der mittelst Centrifuge getrennt und, wiederum in 0.2 proc. HCl gelöst, sich als ein äusserst wirksames Pepsin erwies. Durch wiederholtes Auflösen in 0.2 proc. HCl und bei 15- bis 20 stündigem Dialysiren der Lösung, wobei er sich von Neuem ausscheidet, wurde der Körper gereinigt. Der nach dem Centrifugiren erhaltene Niederschlag, mit wenig destillirtem Wasser gewaschen und Anfangs auf Fliesspapier, sodann über SO_4H_2 getrocknet, bildet ein gelbes, leicht zerreibliches, kaum hygroskopisches Pulver, das wenig in Wasser, leichter in verdünnter Kochsalzlösung, namentlich bei Bruttemperatur, löslich ist. In verschiedenen verdünnten Säuren löst es sich, am besten bei Körpertemperatur, zu einer wasserklaren Flüssigkeit auf und scheidet sich flockig aus, sobald der Säuregrad bis zu einem gewissen Gehalte erniedrigt ist. Für Salzsäure ist die Löslichkeit am geringsten bei etwa 0.02 Proc. Nach Pekelharing enthält diese Substanz, die alle Reactionen der Eiweisskörper zeigt und als ausserordentlich kräftiges Pepsin sich herausstellte, ungefähr 1.0 Proc. Phosphor. Diese sehr complicirt zusammengesetzte Verbindung ist sehr labil. Das Auswaschen durch Alkohol zerstört sie; sie verliert dabei ihre Löslichkeit in HCl und auch das Vermögen, Eiweiss zu verdauen. Wird ihre wässerige, saure Lösung schnell zum Kochen erhitzt, so wird sie gespalten: 1. in ein bei saurer Reaction unlösliches Nucleoproteïd; 2. in eine Albumose, und 3. in eine in warmem Alkohol leicht, in kaltem schwer lösliche, phosphorhaltige Substanz.

Pekelharing vermuthet, dass das von ihm auf die oben beschriebene Weise erhaltene Pepsin identisch sei mit dem von Frau Schumow-Simanowski durch Abkühlen des natürlichen Magensaftes isolirten körnigen Pepsin, giebt aber nicht an, ob sein Product chlorhaltig sei. Nach den Analysen von Schumow-Simanowski enthält das körnige Pepsin etwa 1 Proc. Chlor. In einer im vorigen Jahre erschienenen Mittheilung von Friedenthal[1]), der den nach Pawlow's Methode erhaltenen Magensaft untersuchte, wird der Chlorgehalt des Pepsins geleugnet. Nach ihm ist die Salzsäure im Magensafte nur als freie Salzsäure enthalten. Der Gefrierpunkt des von ihm untersuchten Saftes, dessen Säuregehalt = 0.577 Proc. HCl war, lag bei —0.61°, also fast genau übereinstimmend mit dem einer 0.577 proc. HCl. Aus dieser Thatsache, sagt Friedenthal, kann mit Sicherheit gefolgert werden, dass die Salzsäure nicht in einer chemischen Verbindung

[1]) Archiv f. Anat. u. Physiol., Jahrg. 1900, physiol. Abth., S. 181.

mit Pepsin im Magensaft enthalten ist. Vorgreifend wollen wir schon hier bemerken, dass nach unserer Meinung die Ansicht Friedenthal's eine irrige ist. Zweifellos ist das Molekulargewicht des Pepsins ein sehr hohes, und je höher das Molekulargewicht, um so kleiner ist die durch die betreffende Substanz bewirkte Depression. Im Vergleich zu der starken Depression, welche durch die freie Salzsäure des Magensaftes bewirkt wird, ist die durch das Pepsin des Saftes bedingte eine verschwindend kleine. Der Magensaft des Hundes enthält ca. 0.3 Proc. festen Rückstand. Angenommen, dass der feste Rückstand nur aus Pepsin besteht, so sind dafür, unter der Voraussetzung, dass das Pepsin 1.0 Proc. HCl enthält, 0.003 g HCl erforderlich. Der von Friedenthal untersuchte Saft enthielt im Liter 5.77 g HCl. Von diesen 5.77 g wären danach nur 0.03 g HCl oder etwa der 0.005te Theil an Pepsin gebunden, die übrige Säure des Saftes aber als freie Säure darin vorhanden. Dass die Gefrierpunktsbestimmung über die Frage, ob das Pepsin des Magensaftes Chlor enthält oder nicht, absolut nichts beweisen kann, liegt auf der Hand. Wir werden weiter unten Gründe anführen, die entschieden dafür sprechen, dass das Chlor ein integrirender Bestandtheil des genuinen Pepsinmoleküls ist.

Zu unseren Versuchen dienten und dienen noch jetzt vorwiegend zwei Hunde, von denen der eine 46 kg schwer, im October 1899, der andere, 23 kg schwer, im November des gleichen Jahres operirt wurde. Für die Magenfistel benutzten wir silberne Canülen mit leicht gewölbten Rändern. Sie haben den Vortheil, dass sie vom Magensafte nicht angegriffen werden und andererseits durch den inneren Rand die Schleimhaut nicht reizen. Die Thiere wurden mit Pferdefleisch, Brot, Hafersuppe und Milch ernährt, die ihnen durch die Magenfistel zweimal am Tage hineingebracht wurden. Die Nahrungszufuhr wurde so regulirt, dass die Thiere, nachdem sie von den beiden Operationen sich erholt haben, noch einige Kilo an Gewicht zunahmen und dann ihr Körpergewicht annähernd constant blieb. Von Zeit zu Zeit wurden dem verfütterten Fleisch einige Gramm Kochsalz zugesetzt. Bei sorgfältiger Pflege, Ausspülen des Magens bei eingetretener Indigestion mit Creosotwasser und peinlicher Reinlichkeit bleiben die Thiere Jahre lang gesund und liefern stets reinen Saft. Wir entnahmen unseren Hunden in der Regel zweimal in der Woche durch die Scheinfütterung je 400 bis 500 ccm Saft. Ausserdem erhielten wir öfters aus der Abtheilung von Professor Pawlow auf gleiche Weise gewonnenen Magensaft, so dass wir genug Gelegenheit hatten, individuelle Schwankungen dieses Secretes und seine Abhängigkeit von der Ernährung zu studiren.

In seiner Abhandlung spricht Pekelharing die Vermuthung aus, dass das von ihm aus Schweinemagen dargestellte künstliche Pepsin identisch sei mit dem körnigen Pepsin, das Frau Schumow-Simanowski durch Abkühlung des natürlichen Magensaftes vom Hunde erhalten hat. Nach unseren Versuchen ist diese Vermuthung durchaus richtig. Wir können ferner ergänzend hinzufügen, dass nach gleichem Verfahren, wie das für seine Extracte angewendete, auch aus natürlichem Magensafte ein Pepsin erhalten wird, das in jeder Beziehung genau so wie das Pepsin von Pekelharing sich verhält und nach dem üblichen Sprachgebrauch als damit identisch erklärt werden könnte.

Wird frischer Magensaft von gastro- und ösophagotomirten Hunden in Portionen

von ca. 500 ccm im Pergamentschlauch[1]) gegen die 20fache Menge destillirten Wassers 24 Stunden lang dialysirt, so wird der Schlauchinhalt trübe und der Säuregehalt erheblich vermindert, so dass die Acidität des Schlauchinhalts auf 0.025 bis 0.03 Proc. sinkt. Die trübe Flüssigkeit haben wir in Centrifugenflaschen etwa 15 Stunden bei 0° stehen gelassen, wobei sich ein Theil der Trübung zu Boden setzte und beim nachherigen Centrifugiren ein fest am Boden des Gefässes haftender, klebriger Niederschlag entstand, während die Flüssigkeit meistens vollkommen klar wurde. Lässt man Magensaft gegen fliessendes Wasser und längere Zeit dialysiren, so geht der in den ersten 24 Stunden entstandene Niederschlag wieder in Lösung über, kann aber durch Zusatz von Salzsäure bis zu 0.02 bis 0.03 Proc. von Neuem hervorgerufen werden. Also genau so, wie dies Pekelharing von seinem künstlichen Magensafte angiebt.

Der abfiltrirte und mit wenig 0.02 proc. Salzsäure ausgewaschene Centrifugenniederschlag löst sich in 0.2- bis 0.5 proc. Salzsäure bei der Bruttemperatur vollkommen klar auf und die Lösung hat alle Eigenschaften des ursprünglichen Magensaftes, nur ist die Enzymwirkung ein wenig schwächer. Dies rührt davon her, dass ein Theil des Pepsins noch immer in der Schlauchflüssigkeit gelöst bleibt. Wird Magensaft zum Kochen erhitzt, so scheidet sich daraus das Nucleoproteïd ab, auf das wir noch später zurückkommen werden. Wir haben nun in 100 ccm des ursprünglichen Saftes das durch die Hitze fällbare Nucleoproteïd bestimmt und einen grösseren Theil des gleichen Saftes gegen die zehnfache Menge destillirten Wassers 24 Stunden lang dialysirt, nach dem Stehen in der Kälte und Centrifugiren den Niederschlag abfiltrirt, in 100 ccm des Filtrates durch Kochen das Nucleoproteïd gefällt und den abgeschiedenen Nucleoproteïdniederschlag nach dem Waschen und Trocknen gewogen. Aus der Gewichtsdifferenz der beiden Nucleoproteïdniederschläge haben wir dann berechnet, wie viel Pepsin unter diesen Verhältnissen noch in Lösung blieb. In drei Bestimmungen erhielten wir folgende Zahlen:

Hund A: In 100 ccm des ursprünglichen Magensaftes gefunden Nucleoproteïd 0.0688 g. In 100 ccm des Filtrates vom Centrifugenniederschlage gefunden 0.0126 g = 18.3 Proc. Nucleoproteïd in Lösung geblieben.

Hund A: Aus 100 ccm des Magensaftes erhalten = 0.085 g Nucleoproteïd, in 100 ccm des Filtrates vom Centrifugenniederschlage gefunden 0.0196 g Nucleoproteïdniederschlag = 23 Proc. Pepsin in Lösung geblieben.

Hund B: Aus 100 ccm frischen Magensaftes erhalten 0.0932 g Nucleoproteïd und aus 100 ccm des Filtrates vom Centrifugenniederschlage erhalten 0.0204 g Nucleoproteïd oder in Lösung gebliebenes Pepsin 21.88 Proc.

Im Mittel aus den drei Bestimmungen bleibt also etwa der fünfte Theil des Pepsins in Lösung. Immerhin ist die durch das Dialysiren und Centrifugiren aus dem Magensafte erhaltene Pepsinmenge viel grösser, als die des durch die Kälte abgeschiedenen körnigen Pepsins. Im Mittel aus den drei Bestimmungen von Frau

[1]) Der von uns verwendete Dialysenschlauch aus Pergamentpapier wurde stets vor dem Gebrauch mit 0,5 proc. HCl gefüllt und mehrere Tage lang gegen fliessendes Wasser dialysirt. Wir fanden, dass die Schlauchwand an Wasser nicht unerhebliche Mengen von Calciumsulfat abgiebt, die vorerst entfernt werden mussten.

;en der Salpetersäure auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand ıfgenommen, das abgeschiedene AgCl auf ein gewogenes trockenes .t und nach dem Trocknen bei 110° zurückgewogen. Aus dem .gCl wurde das überschüssige Ag durch HCl gefällt, das Filtrat davon ıerbade verdunstet, der Rückstand mit etwas Wasser aufgenommen ınächst die Phosphorsäure, sodann das Eisen, wie oben angegeben,

;ensaft selbst im Vacuo bei 35 bis 40° verdunstet, so schwärzt sich der ch die stark concentrirte Salzsäure, was eine genaue Bestimmung des ndes beeinträchtigt. Wir haben daher im Magensafte, wo uns die ıng nicht nothwendig war, den Säuregehalt titrimetrisch bestimmt und erforderlichen Menge Natronhydrat neutralisirt. Die neutrale Lösung ı Wasserbade verdunstet, sodann auf 110° bis zur Gewichtsconstanz ı dem Trockengewichte das Gewicht des entstandenen NaCl abgezogen halt an festem Rückstande im Safte ermittelt.

genden Tabelle geben wir zunächst den Gehalt des Saftes an festem .osphor und Eisen, die beiden letzten in Procenten des festen Rück- jede Bestimmung wurden je 400 ccm Magensaft, wie eben angegeben, rat neutralisirt und verarbeitet.

Tabelle Nr. I.

uregehalt auf Cl bezogen in .00 ccm des Magensaftes Proc.	Fester Rückstand in 100 ccm des Saftes in g	Phosphorgehalt in Procenten des festen Rückstandes	Eisengehalt in Procenten des festen Rückstandes
0.55	0.2632	0.71	0.61
0.50	0.3647	0.24	0.20
0.56	0.3319	0.27	0.44
0.54	0.3405	0.22	0.28
0.51	0.4074	0.25	0.63
0.54	0.1600	0.54	0.36
0.52	0.2972	0.37	0.67
0.51	0.2872	0.73	0.47
0.53	0.306	0.41	0.42

le II giebt die Chlor-, Phosphor- und Eisenbestimmungen in dem ;e abgeschiedenen Pepsinniederschlage, der auf folgende Weise ge- :

Iagensaft wurde im Pergamentschlauch 24 Stunden lang gegen die ıge destillirten Wassers dialysirt, der trübe Schlauchinhalt 15 bei 0° stehen gelassen und sodann centrifugirt, wobei am Boden der ıgiger, schleimiger Niederschlag sich absetzte, von welchem die oben- ens ganz klare Flüssigkeit vollkommen abgegossen werden konnte. iederschlag, der sich leicht von der Wand loslöste, wurde auf ein

Schumow-Simanowski beträgt die durch die Kälte abgeschiedene Pepsinmenge von der im Magensafte enthaltenen kaum 5 Proc.

Wir haben vergleichsweise einerseits den ursprünglichen Magensaft, andererseits den Centrifugenniederschlag, in dem ursprünglichen Volumen gleich starker Salzsäure gelöst, auf ihre Wirkung auf geronnenes Eiereiweiss, Milch und Albumosen geprüft. Im Mittel aus 30 Versuchen war die Verdauungskraft für geronnenes Eiereiweiss, nach Mette bestimmt, für den gelösten Centrifugenniederschlag etwa auf 1/4 herabgesetzt; ebenso gerann die Milch etwas später und auch die Bildung des Plasteïns aus Albumosen nach Danilewski war verzögert und seine Menge geringer. Man kann aber auch umgekehrt durch concentrirtere Lösungen des Centrifugenniederschlages viel energischere Enzymwirkung als beim ursprünglichen Magensafte erzielen. So haben wir beispielsweise den Centrifugenniederschlag von 500 ccm Magensaft in 100 ccm 0.5 proc. Salzsäure durch 15 Minuten langes Stehen im Thermostaten in Lösung gebracht. Die Verdauungskraft des ursprünglichen Magensaftes, nach Mette bestimmt, war = 4.7 mm, die Verdauungskraft des Niederschlages dagegen 7.6 mm. Ein anderer Theil der letzteren Lösung wurde mit 0.1 proc. Normalnatronlauge genau neutralisirt und 1.0 ccm davon zu 10 ccm frischer, brutwarmer Milch zugesetzt, worauf die Milch fast momentan coagulirte. Nach 15 stündigem Stehen im Thermostaten war das Caseïngerinnsel vollkommen gelöst und nur mit darauf schwimmender Fettschicht bedeckt. Ebenso gab Albumoselösung, nach Danilewski bereitet, einen viel reichlicheren Niederschlag von Plasteïn als ceteris paribus der ursprüngliche Magensaft. Aus dem Magensafte können auf diese Weise sehr wirksame Enzymlösungen bereitet werden; einfacher ist es allerdings, durch Aussalzen des Saftes mittelst Ammoniumsulfat die Enzyme daraus zu isoliren und durch Vermischen mit Zucker, Eiweiss oder Glycerin in haltbarer Form aufzubewahren. Wie schon oben erwähnt, giebt Pekelharing an, dass der von ihm erhaltene Centrifugenniederschlag, rasch zum Kochen erhitzt, in ein Nucleoproteïd, eine Albumose und in eine in Alkohol lösliche Substanz zerfällt. Nach seinen Analysen enthält das Nucleoproteïd 0.3 Proc. Phosphor und giebt, mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, Alloxurbasen. Friedenthal[1]), der mit Recht gegen Pekelharing betont, dass das Pepsin aus dem neutralisirten Magensafte nicht durch Aufkochen, sondern durch die kochende verdünnte Salzsäure gefällt wird, ergänzt die Beobachtungen Pekelharing's dahin, dass aus dem Nucleoproteïd nicht allein Alloxurbasen, sondern auch Pentose abgespalten wird. Die Natur der in Alkohol löslichen Substanz, die Pekelharing als Spaltungsproduct des genuinen Pepsins ansieht, hat er nicht näher festgestellt und nur ermittelt, dass sie, mit Soda und Salpeter geschmolzen, eine phosphorreiche Asche giebt.

Auch in dieser Hinsicht stimmen unsere, an reinem Magensafte gemachten Beobachtungen mit den Angaben Pekelharing's überein. Wird frischer Magensaft, oder der in 0.5 proc. HCl gelöste Centrifugenniederschlag rasch zum Kochen erhitzt, so entsteht ein reichlicher, flockiger Niederschlag, vorwiegend aus dem Nucleoproteïd, zum geringeren Theile aus der in Alkohol löslichen Substanz bestehend.

---

[1]) Archiv f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., Jahrg. 1900, S. 186.

In dem Filtrate davon giebt Ammoniumsulfat, bis zur Sättigung eingetragen, einen flockigen Niederschlag, der die Biuretreaction giebt und offenbar die Albumose Pekelharing's ist. Das auf dem Filter durch Waschen mit Alkohol von der darin löslichen Substanz befreite Nucleoproteïd, mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt, giebt sowohl die Alloxurbasen wie auch die Pentose. Von der Anwesenheit der letzteren haben wir uns sowohl durch die Orcin- wie durch die Resorcin-Probe resp. die charakteristischen Absorptionsbänder im Spectrum überzeugt.

Frau Schumow-Simanowski hat in ihrem nur durch die Kälte abgeschiedenen Pepsin nach langem Waschen mit Alkohol keine Phosphorsäure gefunden. Pekelharing vermuthet, dass gerade durch Alkohol das Pepsin angegriffen wird und dabei seinen Phosphor verliert. Diese Vermuthung ist insofern richtig, als die in Alkohol lösliche Substanz, die zusammen mit dem Nucleoproteïd ausfällt, phosphorhaltig ist. Wenn aber schon durch Waschen mit Alkohol diese Substanz entfernt werden kann, so lag die Vermuthung nahe, dass sie dem ursprünglichen Centrifugenniederschlage entweder nur mechanisch beigemischt ist oder, was wahrscheinlicher, zu einer sehr lockeren Verbindung mit dem Pepsin verbunden sei. Eine weitere Consequenz dieser Hypothese ist es, dass ebenso leicht, wenn nicht leichter, wie durch Waschen mit Alkohol, auch durch Waschen mit Wasser, resp. die Dialyse, eine Abspaltung einzelner Bestandtheile aus dem ursprünglichen Molekül des Pepsins geschieht. In dieser Annahme wurden wir noch bestärkt, als wir fanden, dass nach 24stündiger Dialyse von 500 ccm Magensaft gegen die zehnfache Menge destillirten Wassers das Aussenwasser des Dialysators, auf ein kleines Volumen verdunstet, sehr starke Reactionen auf Phosphorsäure, Schwefelsäure, Sulfocyansäure, Kalk, Magnesia und Eisen gab. Bezüglich des letzteren Elementes im Magensafte sind die Angaben der Autoren nicht übereinstimmend. Bunge sagt in seinem Lehrbuche der physiologischen und pathologischen Chemie[1]), dass von den in den Darm sich ergiessenden Secreten nach den bisherigen Analysen der Magensaft das eisenreichste und weit eisenreicher als die Galle sei. In einer vor Kurzem erschienenen Publication widerspricht dieser Angabe Bunge's Charles Dhéré[2]), der den Saft aus einem nach der Methode von Frouin isolirten Blindsacke des Magens analysirte. Dhéré bestimmte das Eisen in dem Safte colorimetrisch und fand, dass darin nur Spuren von Eisen enthalten sind. Nach seinen Bestimmungen secernirte ein 16 kg schwerer Hund in dem Magensafte innerhalb 24 Stunden nicht mehr als 0.25 mg Eisen.

Um den wahren Sachverhalt zu ermitteln und dadurch auch einen besseren Einblick in die chemische Zusammensetzung des Pepsins zu erhalten, haben wir den Phosphor- und Eisengehalt und zwar: 1. in dem reinen Magensafte, 2. in dem aus dem Magensafte erhaltenen Centrifugenniederschlage, und 3. in dem mit Alkohol ausgewaschenen Niederschlage bestimmt. Ausserdem bestimmten wir in dem Centrifugenniederschlage den Chlorgehalt vor und nach der Behandlung mit Alkohol. Durch diese Bestimmungen bezweckten wir, eine Aufklärung über die mehr oder weniger feste Bindung dieser Elemente im Pepsinmolekül zu erhalten.

[1]) 3. Auflage, 1894, S. 87.

[2]) Journal de Physiolog. et Patholog. générale, 1900, t. 2, p. 524.

Bei dem geringen Gehalte des Magensaftes resp. des Pepsinniederschlages an diesen Elementen mussten wir erst einige analytische Schwierigkeiten überwinden und zuverlässige Bestimmungsmethoden ermitteln. Nach mehrfachen Versuchen sind w r bei folgendem Verfahren stehen geblieben.

Die bis zum constanten Gewichte bei 110° C. getrocknete Substanz wurde im Porcellantiegel mit einem einfachen Brenner bei sehr langsam steigender Temperatur verascht. Solche Veraschung von 0.5 bis 2.0 g Substanz erfordert 20 bis 30 Stunden. Die Asche hatte immer eine röthliche Färbung, vom Eisenoxyd herrührend. Qualitativ wurde darin auch Kalk nachgewiesen. Da, wo es sich nicht um Aschebestimmung handelte, wurde der trockene Niederschlag durch Schmelzen mit Kali und Salpeter direct verbrannt und in beiden Fällen die Asche in möglichst wenig Salzsäure gelöst und aus der Lösung zunächst die Phosphorsäure mit Molybdänlösung gefällt. Der nach 24stündigem Stehen abgeschiedene Molybdänniederschlag wurde durch ein kleines, aschefreies Filter filtrirt, mit möglichst wenig einer Lösung von salpetersaurem Ammon in Salpetersäure (5 Proc. NO_3NH_4 + 1 Proc. NO_3H) nachgewaschen, in NH_3 gelöst und die nicht mehr als 30 bis 50 ccm betragende Lösung mit etwas Magnesiamixtur gefällt. Der nach zwei- bis dreitägigem Stehen abgeschiedene Niederschlag wurde, wie üblich, als pyrophosphorsaure Magnesia gewogen.

Das Filtrat vom Molybdänniederschlage wird mit Ammoniak übersättigt und einige Stunden auf dem warmen Wasserbade digerirt. Das abgeschiedene Eisenoxyd, dem öfters Kalk beigemischt ist, auf ein kleines Filter filtrirt, wird vollkommen ausgewaschen, in Salzsäure gelöst und nach Knorre[1]) mit Nitroso-β-Naphtol in essigsaurer Lösung gefällt. Nach dreitägigem Stehen wird der Niederschlag filtrirt, mit 50 proc. Essigsäure nachgewaschen, getrocknet, unter Zusatz von etwas Ammonnitrat geglüht und als Eisenoxyd gewogen.

Diese gewichtsanalytische Bestimmung des Eisens ist, selbst da, wo nur einige Milligramme gewogen werden, jeder colorimetrischen Bestimmung vorzuziehen. Wir haben versucht, das Eisen mit dem Ferrometer von Jolles zu bestimmen, erhielten aber keine übereinstimmenden Zahlen. Die Nüance des erhaltenen sulfocyansauren Eisenoxyds war häufig eine andere, wie die der Normallösung und blieb auch bei wechselnden Concentrationen von der Normallösung verschieden. In der Vermuthung, dass in der Asche neben Eisen auch Mangan enthalten sein könnte, haben wir die Asche des Magensaftes wiederholt nach dem empfindlichen Verfahren von P. Pichard[2]) auf Mangan geprüft. Das Resultat war stets negativ.

Da, wo wir neben Phosphorsäure und Eisen auch Chlor bestimmen wollten, wurde die abgewogene Substanz nach Carius mit reiner, starker Salpetersäure und etwas Silbernitrat im zugeschmolzenen Rohre — bei grösseren Substanzmengen in zwei verschiedenen Röhren — Anfangs zwei Tage lang auf dem Wasserbade, wobei jeden Tag die Gase herausgelassen wurden, hernach bei 200°, bis kein Druck mehr vorhanden war, erhitzt. Der Röhreninhalt wurde hierauf sammt dem Waschwasser

---

[1]) G. Knorre, Ber. **20**, 283 und Zeitschr. f. analytische Chemie **28**, 234.

[2]) Compt. rend. **126**, 550 und 1882, auch Maly's Jahresber. für Thierchemie **28**, 521.

bis zum Verjagen der Salpetersäure auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, das abgeschiedene AgCl auf ein gewogenes trockenes Filter gebracht und nach dem Trocknen bei 110° zurückgewogen. Aus dem Filtrate vom AgCl wurde das überschüssige Ag durch HCl gefällt, das Filtrat davon auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit etwas Wasser aufgenommen und daraus zunächst die Phosphorsäure, sodann das Eisen, wie oben angegeben, abgeschieden.

Wird Magensaft selbst im Vacuo bei 35 bis 40° verdunstet, so schwärzt sich der Rückstand durch die stark concentrirte Salzsäure, was eine genaue Bestimmung des festen Rückstandes beeinträchtigt. Wir haben daher im Magensafte, wo uns die Aschebestimmung nicht nothwendig war, den Säuregehalt titrimetrisch bestimmt und mit der genau erforderlichen Menge Natronhydrat neutralisirt. Die neutrale Lösung wurde auf dem Wasserbade verdunstet, sodann auf 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, von dem Trockengewichte das Gewicht des entstandenen NaCl abgezogen und so der Gehalt an festem Rückstande im Safte ermittelt.

In der folgenden Tabelle geben wir zunächst den Gehalt des Saftes an festem Rückstand, Phosphor und Eisen, die beiden letzten in Procenten des festen Rückstandes. Für jede Bestimmung wurden je 400 ccm Magensaft, wie eben angegeben, mit Natronhydrat neutralisirt und verarbeitet.

Tabelle Nr. I.

Nr.	Säuregehalt auf HCl bezogen in 100 ccm des Magensaftes Proc.	Fester Rückstand in 100 ccm des Saftes in g	Phosphorgehalt in Procenten des festen Rückstandes	Eisengehalt in Procenten des festen Rückstandes
1	0.55	0.2632	0.71	0.61
2	0.50	0.3647	0.24	0.20
3	0.56	0.3319	0.27	0.44
4	0.54	0.3405	0.22	0.28
5	0.51	0.4074	0.25	0.63
6	0.54	0.1600	0.54	0.36
7	0.52	0.2972	0.37	0.67
8	0.51	0.2872	0.73	0.47
Im Mittel	0.53	0.306	0.41	0.42

Die Tabelle II giebt die Chlor-, Phosphor- und Eisenbestimmungen in dem durch Centrifuge abgeschiedenen Pepsinniederschlage, der auf folgende Weise gewonnen wurde:

Frischer Magensaft wurde im Pergamentschlauch 24 Stunden lang gegen die zehnfache Menge destillirten Wassers dialysirt, der trübe Schlauchinhalt 15 bis 20 Stunden bei 0° stehen gelassen und sodann centrifugirt, wobei am Boden der Flaschen ein teigiger, schleimiger Niederschlag sich absetzte, von welchem die obenstehende, meistens ganz klare Flüssigkeit vollkommen abgegossen werden konnte. Der klebrige Niederschlag, der sich leicht von der Wand loslöste, wurde auf ein

Filter gebracht und, ohne weiter gewaschen zu werden, vom Filter mit einem Spatel abgehoben und auf Uhrgläser im Vacuo über concentrirter SO_4H_2 und Aetznatron getrocknet. Nach dem Trocknen liess sich die Substanz leicht pulvern und verlor bei 107° im Luftbade fast nichts mehr an Gewicht. Nachdem wir so von zwei bis vier Liter Saft Pepsin gesammelt hatten, wurde darin nach dem oben beschriebenen Verfahren zunächst das Chlor, sodann die Phosphorsäure und hierauf das Eisen bestimmt.

Tabelle Nr. II.

Nr.	Durch die Centrifuge abgeschiedenes Pepsin bei 107° getrocknet g	Chlor	Phosphor	Eisen
		in Procenten des trockenen Pepsins		
1	0.7784	0.48	0.104	0.117
2	0.5130	0.47	0.148	0.151
3	1.0372	0.48	0.073	0.11
4	0.4304	0.47	0.091	0.18
	Im Mittel	0.475	0.104	0.16

In einer dritten Versuchsreihe haben wir den auf gleiche Weise durch die Centrifuge erhaltenen Pepsinniederschlag auf dem Filter so lange mit 96 proc. Alkohol gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr auf Chlor reagirte. Die Substanz wurde hierauf bis zum constanten Gewichte bei 105° getrocknet, im Porcellantiegel verascht und in der Asche die Phosphorsäure, das Eisen und in einem Falle auch das Chlor bestimmt. Die erhaltenen Zahlen sind in der Tabelle Nr. III zusammengestellt.

Tabelle Nr. III.

Nr.	Pepsinniederschlag mit Alkohol gewaschen und bei 105° getrocknet in g	Asche in Procenten des trockenen Pepsins	Eisen in Procenten des trockenen Pepsins	Phosphor in Procenten des trockenen Pepsins	Chlor in Procenten des trockenen Pepsins
1	1.813	0.457	0.119	0.046	—
2	2.1758	0.389	0.158	0.045	0.188
3	0 6622	0.439	—	0.091	—
4	0.7108	0.309	0.068	0.055	—
	Im Mittel	0.399	0.115	0.059	0.188

Aus dem Vergleiche der in den drei obigen Tabellen gegebenen Zahlen glauben wir folgende Schlüsse ziehen zu dürfen:

1. Zunächst fällt auf der geringe Gehalt an festen Stoffen im Magensafte des Hundes, bei dem wir vorwiegend diese Bestimmungen gemacht haben. Der Hund, an dem die Frau Schumow-Simanowski ihre Versuche angestellt hat, hatte in seinem Safte im Minimum 0.428 Proc., im Maximum 0.6 Proc., im Mittel 0.53 Proc.

festen Rückstand. Ihr Versuchshund erhielt täglich 700 g Fleisch, 600 g Brot, 1 Liter Milch und 1 Liter Wasser. Unser 26 Kilo schwerer Hund erhielt täglich 1.2 Kilo Fleisch, 400 g Brot und 1 Liter Hafersuppe. Obgleich die Zufuhr an Wasser eine geringere war, ist bei unserem Hunde der Gehalt an festem Rückstand ein kleinerer. Dies hat seinen Grund darin, dass unser Hund verhältnissmässig weniger Kohlehydrate erhielt. Als wir das Verhältniss der Nahrungsstoffe in der Weise änderten, dass der Hund 500 g Fleisch, 600 g Brot und 1 Liter Hafersuppe erhielt, schwankte der Gehalt an festem Rückstand zwischen 0.3 bis 0.4 Proc., war also entschieden merklich höher wie bei überwiegender Fleischnahrung.

Den geringsten Schwankungen, nicht allein bei diesem Hunde, sondern, wie wir dies auf Grund zahlreicher Bestimmungen des Magensaftes anderer Hunde sagen können, ist die Acidität des Magensaftes unterworfen. Beim schwankenden Gehalte an festem Rückstand, Eisen und Phosphorsäure ist der Gehalt an Salzsäure ein relativ constanter.

Im Mittel aus den acht Bestimmungen in frischem Magensafte ist der Phosphorgehalt desselben, auf festen Rückstand bezogen, = 0.41 Proc. und der des Eisens = 0.42 Proc. Beide Zahlen sind aber bei demselben und gleich ernährten Hunde grossen Schwankungen unterworfen. Den höchsten Gehalt an diesen beiden Elementen fanden wir in frischem Magensafte, schon geringer in dem durch die Centrifuge abgeschiedenen, und am geringsten in dem mit Alkohol gewaschenen Pepsin.

Ein Vergleich der drei Tabellen zeigt ferner noch folgende Eigenthümlichkeiten:

Wenn wir das Verhältniss von Phosphor zu Eisen, wie es im phosphorsauren Eisen ($PO_4Fe = 31:56$) enthalten ist, berücksichtigen (s. Tabelle Nr. I), so enthält der Magensaft erheblich mehr Phosphorsäure, als zur Bindung sämmtlichen Eisens erforderlich ist. Umgekehrt zeigt die Tabelle Nr. II, dass hier das Verhältniss von Phosphor zu Eisen fast ein äquivalentes ist. Wir fanden im Mittel auf 1 Theil Phosphor 1.6 Theile Fe, während das Aequivalent $31:56 = 1:1.8$ ist. Freilich schwanken die einzelnen Bestimmungen, wie es bei so geringen Mengen dieser Elemente kaum anders zu erwarten war, in ziemlich weiten Grenzen. Die Tabelle Nr. III zeigt uns, dass durch Waschen mit Alkohol das Pepsin mit dem Lecithin fast die Hälfte des Phosphors verliert, der Verlust an Eisen aber ist nur ein geringer.

Der Vergleich der Tabellen I und II zeigt uns auch, dass ein erheblicher Theil des Eisens und der Phosphorsäure bei der Dialyse in das Aussenwasser übergeht. Von 0.42 Proc. sinkt der Eisengehalt auf 0.16 Proc. und der des Phosphors von 0.41 Proc. auf 0.10 Proc.

Das anscheinend äquivalente Verhältniss von Phosphor zu Eisen, sowie der constante Chlorgehalt im Centrifugenniederschlage machten auf uns den Eindruck, dass wir ein chemisches Individuum vor uns haben. Wir haben daher auch die übrigen Elemente in dem in Tabelle II, sub Nr. 4 angeführten Präparate bestimmt und erhielten folgende Zahlen:

0.5024 g im Porcellantiegel geglüht, hinterliessen 0.0029 g Asche = 0.57 Proc.

0.2522 g = 0.2508 g aschefreier Substanz gaben 0.4714 g CO_2 und 0.1520 g H_2O = 51.26 Proc. C und 6.74 Proc. H.

0.2610 g gaben 19.8 ccm N-Gas bei 759 mm Barometerstand und 16.8° Temperatur über 30 Proc. KOH oder 14.33 Proc. N aschefrei berechnet.

0.7784 g gaben 0.0865 g SO_4Ba oder 1.5 Proc. S.

Diese Zahlen sind nur wenig abweichend von der von Frau Schumow-Simanowski für das durch die Kälte oder durch Ammonsulfat abgeschiedene Pepsin, zumal wenn man berücksichtigt, dass sie ihre Analysen ohne Abzug der Asche berechnete. Der grösste Unterschied betrifft das Chlor, wovon wir in dem durch die Centrifuge abgeschiedenen Pepsin etwa nur halb so viel gefunden haben. Gross ist aber der Unterschied im Phosphorgehalte zwischen dem unserigen und dem von Pekelharing bereiteten Pepsin. Nach Pekelharing[1]) enthält sein Pepsin gegen 1 Proc. Phosphor. Wir fanden in unserem Pepsin nur den zehnten Theil davon.

Aus der Tabelle Nr. III geht hervor, dass durch Waschen mit Alkohol der Pepsinniederschlag erheblich viel an Chlor und Phosphor verloren hat. Nach langem Waschen mit Alkohol hat diese Substanz auch ihre Enzymeigenschaften verloren. Sie verdaut Eiweiss nicht, bringt Milch nicht zur Gerinnung und verwandelt die Albumosen nicht in Plasteïne. Wird dagegen der Centrifugenniederschlag kurze Zeit und rasch mit Alkohol gewaschen, jedoch so, dass in dem mit Wasser verdünnten Filtrate Silbernitrat keine Trübung erzeugt, so löst sich der sofort vom Filter abgehobene Niederschlag in 0.5 Proc. HCl auf und ist in allen den drei Enzymrichtungen, wenn auch etwas schwächer als der nicht mit Alkohol gewaschene Centrifugenniederschlag, wirksam. Ihren Nucleoproteïdcharakter hat die Substanz insofern behalten, als sie nach dem Waschen mit Alkohol, mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, sowohl die Alloxurbasen, als auch die Pentosereactionen giebt.

Um zu erfahren, wieviel das durch die Centrifuge abgeschiedene Pepsin durch Waschen mit Alkohol am Gewichte verliert, haben wir 0.7741 g der bei 110° getrockneten Substanz im Extractionsapparate mit heissem Alkohol so lange behandelt, bis der letztere nichts mehr aufnahm. Die alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand im Vacuo über SO_4H_2 getrocknet. Sein Gewicht war = 0.0772 g oder 9.97 Proc. In dem mit heissem Alkohol völlig erschöpften Pepsin wurde noch Chlor, Phosphor und Eisen bestimmt. Von den zwei ersten Elementen wurden nur minimale Mengen gefunden. Der Eisengehalt schien dagegen nicht vermindert zu sein. Wir fanden darin 0.10 Proc. Cl, 0.08 Proc. P und 0.185 Proc. Fe vom Gewichte des trockenen, mit Alkohol extrahirten Pepsins.

Dass beim Waschen des Centrifugenniederschlages mit Alkohol eine darin lösliche phosphorhaltige Substanz ausgewaschen wird, hat schon Pekelharing angegeben, jedoch über ihre Natur nichts Näheres mitgetheilt. Nach unseren Beobachtungen verbleibt nach Verdunsten des Alkohols eine wachsartige, amorphe Masse, die auf Platinblech wie Fett mit russender Flamme verbrennt und die in Aether, wenn auch weniger leicht, löslich ist. Der nach Verdunsten des Aethers hinterbliebene Rückstand, mit Kali geschmolzen, mit wenig Wasser aufgenommen und angesäuert, giebt mit Molybdänlösung den charakteristischen gelben Niederschlag von Phosphormolybdänsäure. In Wasser ist diese wachsartige Substanz nur theilweise

[1]) l. c. S. 236.

löslich, theilweise schwimmen Oeltropfen darauf, die unter dem Mikroskope die bekannten für das Lecithin charakteristischen Myelinformen zeigen. Alles dies spricht dafür, dass das durch die Centrifuge abgeschiedene Pepsin Lecithin enthält, das schon durch Waschen mit Alkohol aus dem Pepsin entfernt wird. Leider war die Menge dieser lecithinartigen Substanz zu gering, um ausser den qualitativen Reactionen durch genauere Elementaranalysen ihre Zusammensetzung festzustellen. Wir hoffen, in einiger Zeit die dafür nöthigen Quantitäten zu gewinnen und behalten uns weitere Mittheilungen darüber vor. Es sei nur bemerkt, dass die im Pepsin enthaltene Lecithinmenge, die nach der obigen Bestimmung etwa 10 Proc. beträgt, in Wirklichkeit eine grössere sein muss. Wir haben bei der Dialyse des vollkommen klaren Magensaftes auch das Aussenwasser gesammelt und genauer untersucht. Dieses Aussenwasser wurde mit reiner Soda bis zu ganz schwach saurer Reaction neutralisirt, auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen verdunstet und qualitativ, zum Theil auch quantitativ, auf die aus dem Safte in das Aussenwasser übergegangenen Bestandtheile geprüft. Wir haben auf diese Weise das Aussenwasser von über 10 Liter Magensaft verarbeitet und darin Stoffe nachgewiesen, die wir direct im Safte nicht nachweisen konnten. So hat der eine von uns [1]) schon früher beobachtet, dass der Magensaft Sulfocyansäure enthält; öfters, jedoch nicht immer, war der Gehalt des Saftes an dieser Säure so gross, dass wenige Cubikcentimeter davon, mit einigen Tropfen Eisenchlorid versetzt, gelbrothe bis rothe Färbung zeigten. Andererseits haben wir im Magensafte anderer Hunde die Sulfocyansäure auch dann vermisst, wenn wir 100 bis 300 ccm des Saftes mit Natronlauge neutralisirten, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunsteten, den Rückstand mit wenig Alhohol extrahirten und nach dem Ansäuern mit Eisenchlorid auf Sulfocyansäure prüften. Es stimmt dies mit der kürzlich publicirten Mittheilung von Frouin [2]) überein, der selbst nach Verarbeitung von 500 ccm Magensaft darin keine Sulfocyansäure finden konnte. In dem Safte des Hundes, an dem wir jetzt die meisten Bestimmungen gemacht haben, war ebenfalls, selbst nach Verarbeitung von 300 ccm, keine Sulfocyansäure nachweisbar; als wir aber 6 Liter des Saftes vom gleichen Hunde dialysirten, war in dem auf ein kleines Volumen eingeengten Aussenwasser Sulfocyansäure mit Sicherheit vorhanden; denn alle darauf bezüglichen Reactionen fielen jetzt positiv aus. Bemerkenswerth ist es, dass der zweite bei unseren jetzigen Versuchen benutzte und gleich ernährte Hund in seinem Safte soviel Sulfocyansäure hatte, dass eine Probe davon durch Eisenchlorid sofort röthlichgelb gefärbt wurde. Wir kommen daher zu dem Resultat, dass Sulfocyansäure zwar ein constanter Bestandtheil des Magensaftes ist, jedoch öfters in so geringen Mengen darin vorkommt, dass trotz der empfindlichen Reagentien, die wir zum Nachweis der Sulfocyansäure besitzen, manchmal grössere Mengen des Saftes zum Nachweis dieser Säure verarbeitet werden müssen.

Als wir nun das Aussenwasser von 10 Liter Magensaft auf etwa 100 ccm concentrirten und die Lösung mit HCl ansäuerten, schied sich gegen unsere Erwartung

[1]) Ber. **28**, 1318. — Dieser Band S. 515.
[2]) Compt. rend. Soc. biol. **51**, 583 bis 584 und Maly's Jahresber. **29**, 344.

eine ölige Fettschicht ab, die beim Stehen in der Kälte halbfest wurde und unter dem Mikroskope ausser Oeltropfen auch Fettkrystalle, denn beides war in Aether löslich, enthielt. Die ganze Flüssigkeit wurde jetzt mit Aether ausgeschüttelt und der Aetherextract auf dem Wasserbade verdunstet. Es hinterblieb ein Rückstand von halbfestem Fett, das, mit Kali und Salpeter geschmolzen, mit Ammoniummolybdat eine starke Reaction auf Phosphorsäure gab. Wir schliessen daraus, dass schon durch Waschen mit Wasser, resp. durch die Dialyse aus dem Pepsin, ein Theil des Lecithins entfernt wird.

Ausser Sulfocyansäure und Lecithin enthält das Aussenwasser, und zwar in relativ erheblicher Menge, auch Eisen und Phosphorsäure. Wir haben beispielsweise das Aussenwasser von 1 Liter Magensaft gegen 10 Liter Wasser dialysirt, dann verdunstet und darin 0.0052 g P und 0.0036 g Fe gefunden. Ob diese beiden Elemente durch Dissociation aus dem Pepsinmolekül abgespalten wurden oder nur in Form von Salzen im Magensafte enthalten waren, lässt sich nicht entscheiden. Uns ist die erste Annahme die wahrscheinlichere.

Alle die von uns gemachten Beobachtungen sprechen entschieden dafür, dass das als Enzym wirksame Pepsinmolekül ein sehr labiles und complex zusammengesetztes ist. Das Eiweissmolekül ist in diesem Nucleoproteid, abgesehen von Eisen, Phosphorsäure und Pentose, auch noch mit Lecithin und Chlor verbunden.

Was das Chlor betrifft, so haben wir schon oben gezeigt, dass die Gefrierpunktsbestimmung zu der Entscheidung der Frage, ob das Chlor im Magensafte nur als freie Salzsäure oder zum Theil an das Pepsin gebunden vorkommt, nichts beweisen kann. Wir haben aber gesehen, dass selbst nach völligem Auswaschen des Pepsins mit Alkohol, wo der Waschalkohol nicht die geringste Reaction zeigt, das Pepsin noch immer, zwar minimale Mengen, Chlor enthält, die aber viel zu gross sind, um sie auf Rechnung des etwa nicht ausgewaschenen Chloralkalis zu bringen. Ein analoges Verhalten können wir aus eigener Erfahrung mit einer viel beständigeren chlorhaltigen Verbindung — nämlich dem Hämin — anführen.

Durch langes Waschen der Häminkrystalle mit kaltem Wasser wird ihr Chlorgehalt von 5.4 Proc. auf weniger wie 1 Proc. herabgedrückt. Das Chlor der Häminkrystalle ist nicht als Salzsäure darin enthalten, sondern sehr wahrscheinlich an Eisen gebunden. Werden die Häminkrystalle in Alkalien gelöst, so wird unter Bildung von Chloralkali das Chlor durch Hydroxyl ersetzt. Das Hämin wird in Hämatin verwandelt. Aber selbst durch überschüssiges Alkali und langes Auswaschen ist die Verseifung nie eine absolut vollständige und das Hämatin enthält 0.1 bis 0.4 Proc. Chlor.

In Bezug auf das Lecithin ist es bekanntlich F. Hoppe-Seyler, der zuerst die Vermuthung ausgesprochen hat, dass der phosphorhaltige Körper im Eidotter — das Vitellin — eine Verbindung mit Lecithin, ein Lecithalbumin sei. Später hat Leo Liebermann[1]) aus verschiedenen drüsigen Organen und speciell aus der

[1]) Pflüger's Archiv **50**, 25 bis 56 und **54**, 573 f. und Maly's Jahresber. **21**, 240 und 107; **22**, 290; **23**, 32 und 239.

Magenschleimhaut solche Lecithalbumine dargestellt und auf ihre Beziehung zu den Nucleïnen hingewiesen. Liebermann constatirte, dass diese sauer reagirenden Lecithalbumine durch lange Behandlung mit Alkohol den grössten Theil des Lecithins, wenn auch nicht vollständig, verlieren. Offenbar hatte schon Liebermann die gleiche Substanz, allerdings in verändertem Zustande, in den Händen, die später Pekelharing aus der Magenschleimhaut und wir aus dem Magensafte durch Dialyse erhalten haben. Auf Grund seiner Untersuchungen ist H. J. Bing[1]) zu dem Resultate gekommen, dass das Jecorin von Drechsel eine additionelle Verbindung von Lecithin und Zucker sei. Solche molekulare Additionsproducte wurden vom gleichen Autor von Lecithin mit den verschiedensten Substanzen, wie Kochsalz, Natriumlactat, Morphin, Salicin u. s. w. dargestellt. Sie verhalten sich alle ähnlich wie das Jecorin, indem sie in Aether lösliche Verbindungen bilden, die durch Alkohol gefällt werden. Durch überschüssigen Alkohol werden sie wiederum ganz oder theilweise gelöst. Immer mehr bricht die Erkenntniss durch, dass in den organisirten Wesen das Vorkommen solcher unbeständiger, schon durch Wasser oder Alkohol leicht zersetzbarer Additionsverbindungen für die verschiedenen Zwecke des Stoffwechsels ein sehr verbreitetes ist.

Dass das Lecithin dem Pepsin nicht etwa mechanisch beigemischt ist, geht auch daraus hervor, dass der Saft im Vacuo auf ein kleines Volumen concentrirt werden kann, wobei sich ebenso wie beim Abkühlen oder der Dialyse das wirksame, mit Lecithin verbundene Pepsin abscheidet. Bei hinreichender Entfernung der Salzsäure fällt also nicht etwa das Lecithin zuerst aus, sondern das mit dem Lecithin zu einem Ganzen verbundene Eiweissmolekül. Wird bei fortgesetzter Dialyse der Schlauchinhalt noch säureärmer gemacht, so geht der entstandene Niederschlag wieder als Ganzes in Lösung, ohne dass etwa das Lecithin von dem Eiweissmolekül sich abspaltet.

Bei objectiver Betrachtung können wir uns der Ansicht nicht verschliessen, dass das aus den Schleimhäuten verschiedener Thiere (Hund, Schwein, Pferd) von Pekelharing bereitete, sowie das durch die Abkühlung, durch die Dialyse oder durch das Aussalzen mit Ammonsulfat aus dem Magensafte erhaltene Pepsin den Eindruck einer einheitlichen Substanz macht und trotz der verschiedenen Darstellungsverfahren immer dasselbe Product, theilweise nur durch mehr oder weniger eingreifende Behandlung verändert, erhalten wird.

Wir kennen nun drei verschiedene Functionen des Magensaftes und zwar: 1. die peptonisirende oder eiweissverdauende Wirkung, 2. die Labwirkung, und 3. die von Danilewski entdeckte und von seinen Schülern Okuneff, Lawrow und namentlich Sawjalow (vergl. Maly's Jahresber. **29**, 55 und 58) genauer untersuchte Wirkung des Saftes auf Albumosen, wodurch sie in unlösliche, dem geronnenen Eiweiss ähnliche Verbindungen übergeführt werden. Wenn auch die Labwirkung und die Plasteïnbildung aus Albumosen analoge Erscheinungen sind und vielleicht durch dieselbe Enzymgruppe bewirkt werden, so ist doch die verdauende Wirkung des Pepsins eher eine entgegengesetzte der Caseïn- und Plasteïnbildung. Da nun das durch die Kälte oder durch die

[1]) Skandin. Archiv f. Physiol. **9**, 335; **11**, 166.

Dialyse abgeschiedene Pepsin, wie wir auf Grund zahlreicher Versuche sagen können, sowohl Eiweiss verdaut wie auch Milch zur Gerinnung bringt und Albumosen in Plasteïne verwandelt, so müssten, nach der herrschenden Ansicht über die specifische Wirkung der Enzyme, in diesem durch Dialyse abgeschiedenen Pepsin mindestens zwei, möglicher Weise auch drei verschiedene Enzyme enthalten sein. Nach unserer Meinung hat aber auch eine andere Vorstellung über die Natur der Enzyme ihre Berechtigung, sobald wir uns nur die Eigenschaften der so complex zusammengebauten Moleküle, denen wir bei physiologisch-chemischen Untersuchungen auf jedem Schritt begegnen, näher vergegenwärtigen. Diese andere Vorstellung ist nämlich die, dass ein und dasselbe Molekül verschiedenartige Enzymwirkungen haben kann.

Halten wir uns an die Maxwell'sche Definition einer Molekel, so wird darunter derjenige Stofftheil der Materie verstanden, der sich bei der Bewegung als ein Stück bewegt, wenn man bei der Bewegung den Mittelpunkt der Masse in Betracht zieht. Innerhalb der Molekel giebt es dann noch eine Bewegung der Constituenten in Bezug auf den Mittelpunkt. Nehmen wir ferner an, dass die Constituenten der Molekel Atome sind, aus welchen eben die Molekel besteht, und dass jedes Atom als Punkt sich bewegt, so muss jedes Atom in drei Richtungen des Raumes sich bewegen können und deshalb die Zahl der Variablen zur Bestimmung der Lage und Configuration der Atome schon dreimal grösser sein wie die Atomzahl in der Molekel.

Vergegenwärtigen wir uns jetzt, dass die Molekel der complexeren Verbindungen aus einigen Hunderten und, wie bei Eiweisskörpern, aus mehreren Tausenden von Atomen bestehen, von denen wir wissen, dass sie bei der Einwirkung schon der gelindesten Reagentien, wie Wasser, verdünnte Säuren u. s. w., in mehrere, relativ noch sehr complexe Molekel zerfallen, so kommen wir zu dem Schlusse, dass in einer Riesenmolekel, die aus Eiweiss, Lecithin, Pentose, Phosphorsäure, Chlor u. s. w. besteht, die Bewegungen der einzelnen Atome einerseits so bestimmt werden, als ob sie aus den einzelnen Gruppen, nämlich des Eiweisses, des Lecithins, der Pentose u. s. w. bestünden, und wiederum müssen andererseits die Bewegungen der Lecithinmolekel, der Pentosenmolekel u. s. w. in einer bestimmten Weise beeinflusst werden, damit der Charakter der aus ihnen bestehenden Riesenmolekel als Ganzes gewahrt bleibe.

Wir haben dafür ein vorzügliches Beispiel im Hämoglobin, das zu 94 Proc. aus Globin und zu etwa 6 Proc. aus einem farbigen Complex — dem Hämochromogen — besteht. Das Hämochromogen geht sofort an der Luft in das inerte, relativ wenig veränderliche Hämatin über. Durch die lockere Verbindung mit Globin erhält das Hämochromogen ganz andere Eigenschaften; es oxydirt sich an der Luft langsamer, indem es in Oxyhämoglobin übergeht, welches letztere sehr leicht den Sauerstoff abgiebt und wiederum zu Hämoglobin wird. Die Spannung und die Bewegung der Atome in einer solchen Riesenmolekel werden in bestimmter Weise modificirt und den Zwecken der Organismen angepasst.

In einer solchen Riesenmolekel hätten wir dann ausser dem Hauptmittelpunkte noch Centra 2., 3., 4. u. s. w. Ordnung, die für die Bewegungen der einzelnen Atome maassgebend sind und die wir folglich als Seitenmolekel mit eigenen Mittelpunkten bezeichnen können. Da die Riesenmolekel des Pepsins beim Aufkochen des

Magensaftes in Nucleoproteïd, Albumose, Lecithin und Salzsäure zerfällt, so würden alle die genannten Verbindungen als Seitenmolekel oder Theilmolekel 1. Ordnung aufzufassen sein. Das Nucleoproteïd zerfällt ferner mit Säuren gekocht in Eiweiss, Pentose und Alloxurbasen; das Lecithin in Fettsäuren, Glycerin, Phosphorsäure und Neurin. Die jetzt erhaltenen Spaltungsproducte würden Theilmolekel 2. Ordnung sein u. s. w.

Das Bedürfniss nach einer solchen Auffassung der hochcomplexen Molekel zur Erklärung physiologisch-chemischer Vorgänge hat offenbar Ehrlich zur Aufstellung seiner Seitenkettentheorie veranlasst. — In einer Riesenmolekel werden die Theilmolekel verschiedener Ordnung verschiedene Configurationen haben und kann daher eine und dieselbe Molekel anscheinend ganz verschiedene Functionen verrichten. Wissen wir doch von den einfachsten Aminosäuren, dass sie einerseits wie Basen, andererseits wie Säuren sich verhalten. Die Auffassung ist daher durchaus correct, dass die gleiche Riesenmolekel vermöge einer von ihren Seitenmolekeln auf Eiweiss hydrolysirende Wirkung hat, während sie vermöge einer anderen ebenfalls in ihr vorhandenen Theilmolekel die Labwirkung hervorruft. Wir wollen mit dieser Erklärung nicht sagen, dass es nicht Enzyme giebt, die als ganze Molekel nur eine einzige, ihnen specifische Enzymwirkung ausüben. Zwischen solchen einfachsten Enzymen und dem sogenannten lebendigen Protoplasma, das als ein einziges Riesenmolekül die verschiedenartigen Enzymwirkungen ausübt, würden die Molekel mit mehrfacher Enzymwirkung in der Mitte stehen.

Zu dieser Kategorie von Enzymen würde also auch das Pepsinmolekül gehören. Speciell was das eiweisslösende Theilmolekül des Pepsinmoleküls betrifft, sind wir der Ansicht, dass in ihm das Chlor enthalten ist. Dafür spricht der Umstand, dass auch durch ganz verdünnte Alkalien die eiweisslösende Wirkung des Pepsins sofort vernichtet wird. Es erinnert diese Erscheinung lebhaft an die Umwandlung des Hämins in Hämatin. Schon durch ganz verdünnte Alkalien wird das Chlor durch Hydroxyl ersetzt und das sehr reactionsfähige Hämin, das z. B. schon durch 1 pro Mille Salzsäure ätherificirt wird, geht in das beständige, inerte Hämatin über.

Durch Neutralisation mit Alkali wird im Pepsin die Labgruppe nicht zerstört. Wie bekannt, ist das Labferment selbst bei alkalischer Reaction wirksam. Ebenso wird nicht allein durch den sauren, sondern auch durch den schwach alkalisch gemachten Magensaft und durch die käuflichen Labpräparate das Danilewski'sche Plasteïn aus den Albumosen gebildet. Ob die Caseïngerinnung und die Plasteïnbildung auf gleichem chemischen Processe beruhen, resp. durch die gleiche Enzymmolekel hervorgerufen werden, ist noch eine offene Frage. Jedenfalls ist Sawjalow im Irrthum, wenn er behauptet, dass durch das Labferment aus den Albumosen verschiedener Abstammung ein und dasselbe Plasteïn entsteht. Der Vorgang der Plasteïnbildung erfordert noch eine viel genauere Untersuchung, zumal im günstigsten Falle nur etwa der vierte Theil der Albumose in Plasteïn verwandelt wird. So erhielt Sawjalow ceteris paribus aus Protalbumose 10.09 Proc., aus Heteroalbumose 26.59 Proc., aus Deuteroalbumose 2.85 Proc., aus Amphopepton 0.92 Proc. und aus Antipepton 0.0 Proc. Plasteïn. (S. 137 seiner Dissertation, russisch.)

Da die käuflichen Pepsinpräparate mehr oder weniger verändertes Pepsin enthalten, so sind sie, wie auch zu erwarten war, bezüglich der dreifachen Enzymwirkung nicht gleich. Wir haben in dieser Hinsicht das Pepsin Witte, das Pepsin von Jensen u. Langebek-Petersen in Kopenhagen und ein von der chemisch-technischen Fabrik Waldemar Mayer's Wwe. u. Sohn in Rewal bezogenes flüssiges Labferment untersucht. Die beiden ersten Präparate sind trockene Pulver, das Witte'sche stark zuckerhaltig und ihre wässerigen Lösungen reagiren schwach sauer. Das Rewal'sche Labferment reagirt alkalisch.

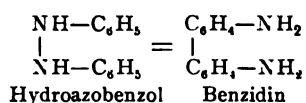
Die zwei ersten pulverigen Präparate hatten die dreifache Enzymwirkung des Pepsins in verschiedenem Grade. Am stärksten war die verdauende Wirkung beim Pepsin Witte, während das Pepsin Jensen-Langebek die stärkste Labwirkung zeigte. Dagegen war hier die Plasteïnwirkung sehr gering. Das alkalische flüssige Labferment verdaute Eiweiss nicht. 1 ccm davon coagulirte 10 ccm brutwarmer Milch innerhalb 2 Minuten und bildete relativ die grösste Menge Plasteïn aus Danilewski's Albumose. Zu einer 10 proc. brutwarmen Lösung des letzteren zugesetzt, erzeugte das Rewal'sche Präparat sofort darin eine Trübung und nach einer halben Stunde war schon die ganze Menge des Plasteïns als dicker Bodensatz abgeschieden.

Hier ist noch ein Umstand zu berücksichtigen. — Es ist möglich und sogar wahrscheinlich, dass in den Extracten der Magenschleimhaut und auch im natürlichen Magensafte die Enzymgruppen nicht alle im activen Zustande sich befinden. Es bedarf einer kleinen Atomverschiebung in der Seitenmolekel, deren Natur uns bis jetzt unbekannt ist, damit das Zymogen zu Zymase wird.

Es ist leicht begreiflich, dass eine so hoch complexe Molekel, wie die des Pepsins aus verschiedenen Theilmolekeln bestehend, nicht die gleiche Cohäsionskraft wie eine einfache nur aus mehreren Atomen bestehende Molekel haben kann. An den letzteren wurden die Grundgesetze der Lehre von Atomen und Molekülen ermittelt. Die hoch zusammengesetzten Moleküle, obgleich sie nach gleichen Grundgesetzen aufgebaut sind, können nicht ohne Zersetzung allen den physikalischen Veränderungen wie die einfachen Moleküle unterworfen werden.

Wir können z. B. Eiweiss nicht in den flüssigen, geschweige in den gasförmigen Zustand überführen. Andererseits muss eine so hoch complicirte Molekel die grösste Mannigfaltigkeit und Verschiedenheit gegenüber den chemischen, thermischen, elektrischen und auch mechanischen Agentien haben. Wir wissen, dass die meisten Eiweissstoffe nicht die Temperatur von über 60°, die Einwirkung der verdünnten Säuren, Alkalien, der Metallsalze, des Alkohols u. s. w. vertragen, ohne dabei molekulare Veränderungen zu erleiden. Die Gerinnung der Eiweissstoffe durch die Hitze beruht jedenfalls auf einer solchen Atomverschiebung aus einem labilen in einen mehr stabilen Zustand. Dabei erleidet wohl selten das ganze Riesenmolekül eine Polymerisation in dem Sinne, wie dies z. B. beim Uebergang der Cyansäure in die Cyanursäure der Fall ist, sondern es findet meistentheils die Atomverschiebung in einer Theilmolekel zu einer stabileren Form statt, ähnlich wie dies z. B. der Fall ist beim Uebergang des wenig beständigen Moleküls des Hydroazobenzols in die mehr stabile des Benzidins:

$$\begin{matrix} NH-C_6H_5 \\ | \\ NH-C_6H_5 \end{matrix} = \begin{matrix} C_6H_4-NH_2 \\ | \\ C_6H_4-NH_2 \end{matrix}$$

Hydroazobenzol Benzidin

Ein solches Riesenmolekül mit verschiedenen Zymasemolekeln ist nach unserem Dafürhalten auch der wirksame Stoff des Hefepresssaftes. Ausser der von Buchner constatirten Bildung von Kohlensäure und Alkohol ist darin nach Cremer[1]) auch ein glycogenbildendes und nach Martin Hahn[2]) ein proteolytisches Enzym enthalten.

Unter den von Thier- und Pflanzenkörpern abgesonderten Enzymen gehört der Magensaft zu denjenigen, die am wenigsten fremde Beimischungen enthalten. Es ist ein Secret ad hoc, das einerseits das Eiweiss der Nahrung lösen und andererseits mittelst des Labenzyms in eine für den Organismus nöthige Form überführen soll. Die genauere Untersuchung dieses Secretes hat gezeigt, dass das wirksame Princip darin ein höchst complicirter, aus Eiweissstoffen, Lecithin und Pentose zusammengesetzter Körper ist, der ausserdem in seinem Molekül Chlor, Phosphorsäure und Eisen enthält. Die Untersuchung dieser Substanz hat aber ferner ergeben, dass die der organischen Chemie entlehnten Reinigungs- und Trennungsmethoden, wie das Waschen mit Wasser, Alkohol u. s. w., zersetzend auf diese Substanzen einwirken. Wir ersehen hieraus, wie illusorisch die Hoffnung ist, mittelst der bisherigen Isolirungs- und Trennungsmethoden chemisch reine Enzyme darzustellen. Um diesen Zweck zu erreichen, müssen erst neue, viel weniger eingreifende Untersuchungsmethoden gefunden werden.

Zum Schlusse möchten wir noch eine Thatsache bezüglich der Eiweissnatur der Enzyme hervorheben, die übrigens schon von Pekelharing in richtiger Weise beleuchtet wurde. Wiederholt wurde angegeben, dass durch Pepsinlösungen, die nicht die geringste Eiweissreaction zeigen, Eiweissstoffe doch verdaut werden. Ohne behaupten zu wollen, dass jedes Enzym nothwendig eine Proteïnsubstanz sein muss, zweifeln wir nicht daran, dass das Pepsin ein complicirt zusammengesetzter Eiweisskörper ist; nur ist der, so zu sagen physiologische Nachweis der Enzyme ein viel empfindlicherer als wie die eigentlichen chemischen Eiweissreagentien. Nach den Bestimmungen von F. Hofmeister[3]) ist die Biuretreaction die mindest empfindliche. In einer alkalisch gemachten Lösung von 1 : 2000 gab vorsichtiger Zusatz von Kupfersulfat noch röthliche Färbung, in einer Lösung von 1 : 10 000 nicht mehr. Zusatz von concentrirter Salpetersäure, sowie Kochen der mit concentrirter Kochsalzlösung und Essigsäure versetzten Flüssigkeit ergab bei 20 000 facher Verdünnung noch eine deutliche Trübung. Bei derselben Concentration fiel auch die Millon'sche Probe noch positiv aus, nicht aber in den verdünnteren Proben. Ferrocyankalium und Essigsäure brachten noch in 50 000 facher Verdünnung deutliche Trübung hervor, nicht mehr deutlich aber bei 100 000 facher Verdünnung. Von den weniger für Eiweiss und mehr für Alkaloide

[1]) Ber. **32**, 2062 bis 2064.
[2]) Maly's Jahresber. **29**, 935.
[3]) Zeitschr. f. physiolog. Chem. **2**, 291.

charakteristischen Reagentien ergaben Tannin, Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberkalium und Jodwismuthkalium noch in sauren Lösungen 1 : 100 000 merkliche Trübungen. Pekelharing giebt aber an, dass einige Hundertstel eines Milligramms, ja selbst $^1/_{1000}$ mg von seinem Pepsin in einigen Stunden eine Fibrinflocke auflösten.

In unseren Versuchen verdauten Lösungen, die in 10 ccm halbprocentiger HCl 0.05 g des Magensaftes enthielten, Fibrin in einigen Stunden, und ihre Verdauungskraft für geronnenes Eiweiss, nach Mette bestimmt, war gleich 1.2 mm. In 1000 g des Saftes sind etwa 3 g festen Rückstandes enthalten. Nehmen wir an, dass der ganze feste Rückstand nur aus Pepsin besteht, so waren in 1 ccm der Lösung nur 0.000015 g Pepsin enthalten, eine Menge, die noch durch die Alkaloidreagentien, nicht aber durch die gewöhnlichen Eiweissreagentien nachweisbar ist. In der That verhielt sich unsere Lösung gegenüber den Eiweissreagentien und selbst gegen Jodquecksilber- und Jodwismuthkalium negativ.

Herr Dr. Dzierzgowski, der gerade zu gleicher Zeit mit der Untersuchung der pflanzlichen Enzyme in unserem Institute beschäftigt war, überbrachte uns etwa 100 ccm des frischen, vollkommen klaren Saftes von Nepenthes, hauptsächlich von Nepenthes messteriana herrührend. Dieser Saft, von schwach saurer Reaction, der innerhalb einer Viertelstunde bei Bruttemperatur Fibrin vollkommen auflöste, gab mit den oben citirten Eiweissreagentien nicht die geringste Trübung resp. Färbung. Als Herr Dzierzgowski aber diesen Saft im Vacuum bei 30° verdunstete, gab der auf einige Cubikcentimeter eingeengte Rückstand sowohl mit Salpetersäure, wie mit Essigsäure und Ferrocyankalium deutliche Trübung und wurde mit Millon's Reagens bei gelindem Erwärmen roth angefärbt.

Einen schlagenden Beweis dafür, dass der physiologische Nachweis dieser labilen Proteïne unvergleichlich empfindlicher als der chemische ist, haben wir in den Antitoxinen, welche allen bisherigen Untersuchungen zufolge den Enzymen sehr nahe stehen und ebenfalls zu den labilen, complexen Eiweissstoffen gehören.

1 ccm des hochwerthigen, antidiphtheritischen Serums enthält 400 bis 800 Antitoxineinheiten — im Mittel 600 Einheiten. — In 0.00166 ccm ist also eine Heileinheit enthalten. 100 g Serum enthalten durchschnittlich 6 g Eiweisskörper. 1 ccm des 600 fach verdünnten Serums enthält demnach 0.0001 g Eiweiss.

Das Diphtherieantitoxin ist in dem Globulinniederschlage des Serums enthalten. Nehmen wir an, dass der zehnte Theil des Serumeiweisses aus Antitoxin besteht, was sicher viel zu hoch gegriffen ist, so würde 1 ccm des 600 fach verdünnten Serums etwa 0.00001 g Antitoxin enthalten. Als Einheit des Antitoxins gilt die zehnfache Heildose, resp. eine einfache Heildose ist in 0.1 ccm enthalten. Ein Millionstel Gramm Eiweiss kann also durch Heilung eines durch sicher tödtliche Diphtherietoxindose inficirten Meerschweinchens physiologisch nachgewiesen werden. Durch chemische Reagentien ist dies nicht möglich.

Von ähnlichen, wie den oben auseinandergesetzten Anschauungen ausgehend, haben wir eine Untersuchung des pankreatischen Saftes unternommen. Wir können schon jetzt mittheilen, dass aus dem klaren, nach Pawlow's Methode

gewonnenen Safte wir in den Alkoholätherextracten Lecithin nachgewiesen haben. Ob es uns gelingen wird, die verschiedenen pankreatischen Enzyme getrennt zu isoliren, oder ob hier analoge Verhältnisse wie beim Magensafte sich herausstellen werden, das ist die Hauptaufgabe, deren Lösung wir anstreben.

Ueber die Entgiftung der Toxine durch die Superoxyde, sowie thierische und pflanzliche Oxydasen

von

N. Sieber.

Zeitschr. f. physiolog. Chem. **32**, 573. — Arch. des sciences biolog. **9**, 151.

Anlässlich meiner gemeinschaftlich mit Prof. M. Nencki und Frau Dr. Schumow-Simanowski ausgeführten Untersuchung über die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte [1]) haben wir gefunden, dass allerdings einzelne Toxine, wie z. B. das Diphtherie- und Tetanotoxin, durch die Verdauungssäfte sehr energisch zerstört werden, so dass ihre Unschädlichkeit bei Verabreichung per os dadurch vollkommen erklärt wird. Andererseits fanden wir bei der Fortsetzung unserer Untersuchung [2]), dass andere Toxine, wie z. B. das Abrin, von keinem der Verdauungssäfte weder einzeln, noch im Gemisch in dem Maasse verändert werden, dass dadurch ihre Unschädlichkeit bei Verabreichung per os erklärt werden könnte. Es müssen also noch andere Factoren sein, welche im Verdauungscanal die Entgiftung des Abrins bewirken. Um der Frage näher zu treten, habe ich daher die Einwirkung solcher oxydirender Agentien, welche mit den Oxydationsvorgängen im Organismus Analogien haben, auf die Toxine untersucht. Ich wählte dazu das Wasserstoffsuperoxyd und Calciumsuperoxyd. Dieses letztere Salz, dessen Spaltung in Kalk und Sauerstoff im Verdauungstractus und den Geweben schon von M. Nencki und J. Zaleski [3]) constatirt wurde, war für meinen Zweck ganz besonders geeignet. Das Calciumsuperoxyd $= CaO_2$, durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Kalkwasser dargestellt, ist ein weisses, krystallinisches, in Wasser unlösliches Pulver, das vier Moleküle Krystallwasser enthält. Bei Zimmertemperatur trocken aufbewahrt, hält es sich lange unverändert; bei der Bruttemperatur dagegen mit Wasser angerührt, zersetzt es sich, wie ich gefunden habe, allmählich unter Entwickelung von Sauerstoff. Als in einem Versuche 5 g Calciumsuperoxyd mit 100 ccm Wasser übergossen und bei 37° in einem mit Ableitungsröhrchen versehenem Kölbchen aufgestellt

[1]) Nencki, Sieber und Schumow-Simanowski, Centralbl. f. Bacter., erste Abth., **23**, 840. — Dieser Band S. 619.

[2]) S. Dzierzgowski und N. Sieber, Arch. des sciences biolog. **8**, 461. — Siehe folgende Mittheilung.

[3]) Nencki und Zaleski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**, 487. — Dieser Band S. 666.

wurden, begann schon nach etwa einer viertel bis halben Stunde eine lebhafte Gasentwickelung. Am nächsten Tage, circa 18 Stunden später, wurde eine Probe des entweichenden Gases über Quecksilber aufgefangen und die quantitative Bestimmung ergab, dass das Gas aus 48 Volumprocent Sauerstoff und 52 Volumprocent Stickstoff — von der eingeschlossenen Luft herrührend — bestand.

Lässt man nun Diphtherietoxin-, Tetanotoxin- oder Abrinlösungen vom bekannten Giftwerthe (es sind die drei Toxine, mit denen ich bis jetzt experimentirte) mit CaO_2 bei Bruttemperatur stehen, so werden in kurzer Zeit diese drei Toxine vollkommen entgiftet. So wurde beispielsweise vom Abrin die für Meerschweinchen 20fach tödtliche Dose durch 0.5 g schon in 10 Minuten entgiftet. In anderen Versuchen wurden 5 ccm Abrinlösung, wovon 0.001 ccm für Meerschweinchen einfach tödtliche Dose war, durch 0.5 g CaO_2 innerhalb vier Stunden entgiftet. Ebenso wurden 5.0 ccm Diphtherie- resp. Tetanotoxinlösung, die 1000fach tödtliche Dose repräsentirend, durch 0.5 g Gorit innerhalb einiger Stunden entgiftet. Controlversuche mit gleichen Mengen Kalkhydrat zeigten, dass das letztere den Toxinen gegenüber unvergleichlich weniger wirksam war. Wasserstoffsuperoxyd war insofern für meine Versuche ungeeignet, als es für die Thiere selbst bei subcutaner Injection giftig ist. Ich benutzte eine 2 proc. Lösung, wovon 1 ccm = 0.02 g H_2O_2 Meerschweinchen subcutan injicirt eine diffuse, harte Schwellung und Entzündung des Unterhautzellgewebes verursachte. Erst die halbe Dose davon, nämlich 0.5 ccm = 0,01 g H_2O_2, wurde von den Thieren ohne merklichen Schaden vertragen. Durch 0.5 ccm dieser H_2O_2-Lösung wurden 10- bis 100fach tödtliche Abrindosen in 10 bis 15 Minuten, vom Diphtherie- und Tetanotoxin sogar 600fach tödtliche Dosen nach wenigen Stunden entgiftet. Die energische Zerstörung der Toxine durch diese Oxydationsmittel war für mich eine Aufforderung, auch die Wirkung der in der letzten Zeit so eingehend und vielseitig von vielen Autoren, wie z. B. von Schönbein, Traube, Pflüger, Schmiedeberg, Jaquet, Salkowski, Spitzer, Medwedeff, Abelous und Biarnès, Bertrand, Bourquelot und vielen Anderen mehr, untersuchten pflanzlichen und thierischen Oxydasen auf die Toxine zu prüfen.

Nach den Untersuchungen der meisten Autoren ist die Wirkung dieser Oxydasen unabhängig von Lebensprocessen der Zelle. Nach Abelous und Biarnès[1]) wird die oxydirende Eigenschaft dieser Körper durch Erhitzen auf 70° vernichtet. Die Oxydation, welche durch diese Substanzen verursacht wird, ist mit Sauerstoffabsorption und CO_2-Ausscheidung verbunden. Pepsin, Papaiotin verdauen die Oxydasen nicht. Die Oxydasen gehen nicht durch Pergamentscheidewand hindurch. Als Reagentien, durch welche die Anwesenheit der Oxydasen bewiesen wird, nennen wir: 1. Guajactinctur, 2. Reactiv von Röhmann und Spitzer (Paraphenylendiamin, α-Naphtol und Soda), 3. ein Reactiv, bestehend aus wässeriger Lösung 1‰ des Metatoluidins und Paraphenylendiamins in alkalischer Lösung und andere mehr. In meinen Versuchen bediente ich mich hauptsächlich der Guajactinctur.

Verschiedene Organe des gleichen Thieres, sowie Organe von verschiedenen

[1]) Abelous et Biarnès, Compt. rend. de la Société de Biologie, 1896, 1897 et 1898.

Thieren enthalten diese Oxydasen in verschiedenen Quantitäten. Das Gewebe eines jungen Individuums oxydirt viel intensiver als das Gewebe eines alten. Da nach Abelous und Biarnès die Globulinoxydasen durch reines Wasser nicht extrahirbar sind, so schlagen sie dafür die Lösungen von Neutralsalzen vor, wie 10 proc. ClNa, 2 proc. Fluornatrium und 8 proc. salpetersaures Kali. Slowzow[1]) hat vorgeschlagen, 6 proc. Salmiaklösung zum Ausziehen der Oxydase aus der Parotis vom Hunde zu verwenden. Bei meinen Versuchen verwendete ich die Oxydasen aus Milz und Fibrin aus Kalbsblut und der Parotis vom Hunde. Fibrin aus Pferdeblut erwachsener Thiere, wie schon Abelous und Biarnès angeben und ich bestätigt gefunden habe, enthält keine Oxydase. Dagegen erwies sich Fibrin aus dem Blute gegen Diphtherie hoch immunisirter Pferde als sehr reich an Oxydase und auch sehr wirksam gegen die Toxine. Ich komme weiter unten hierauf zurück. Eine pflanzliche Oxydase habe ich aus der Schwarzwurzel dargestellt.

Die Versuche mit den Oxydasen haben nun ergeben, dass sie sehr energisch zerstörend auf das Diphtherie- und Tetanotoxin einwirken. Dagegen war die Entgiftung des Abrins nur eine sehr geringe. Beispielsweise zerstörte 1.0 ccm nach der im experimentellen Theil angegebenen Vorschrift dargestelltes Emulsion aus der Milz, der Parotis, dem Kalbsfibrin die 100- bis 600 fache tödtliche Dose des Diphtherie-, die 100- bis 200 fache des Tetanotoxins, bei Bruttemperatur in wenigen Stunden.

In den meisten meiner Versuche habe ich zwar das Gemisch von Toxin und Oxydase, bevor es den Meerschweinchen injicirt wurde, mehrere bis 24 Stunden im Thermostaten stehen gelassen. Ich habe aber gesehen, dass, wenn das Gemisch von Toxin und Oxydase sofort den Thieren injicirt wurde, auch dann die Entgiftung der Toxine nicht ausblieb. Ich injicirte auch Meerschweinchen und Kaninchen in die eine Körperhälfte die 10- bis 20 fache tödtliche Dose des Toxins und sofort darauf in die andere die Oxydase, auch in diesen Versuchen blieben die Thiere am Leben.

Zu höchst interessanten Resultaten führten die Versuche mit dem Fibrin normaler und gegen die Diphtherie immunisirter Pferde. Während das Fibrin der ersteren keine direct Guajactinctur bläuende Oxydase enthält, sondern erst nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd bläuende, sogenannte indirecte Oxydase enthält — Linossier's[2]) ferments oxydants indirectes —, erhielt ich bei gleicher Behandlung aus dem Fibrin immunisirter Pferde Extracte, die Guajactinctur sofort intensiv bläuten und auf die Toxine, ebenso wie die Milz- oder Parotisextracte, vernichtend wirkten. Allgemein war die Oxydasewirkung am intensivsten bei den frisch bereiteten Extracten. Nach einiger Zeit lässt die Wirkung nach. Bemerkenswerth ist es, dass bei Bruttemperatur die Oxydasen länger als bei niedriger Temperatur haltbar sind; selbstverständlich bei Ausschluss der Fäulniss, wodurch die Oxydasen, ähnlich wie durch höhere Temperaturen stärkere Säuren und Alkalien, zerstört werden.

Experimenteller Theil.

Zu den Versuchen mit Calciumsuperoxyd benutzte ich das von der chemischen Fabrik von Heyden Nachfolger in Dresden unter dem Namen „Gorit“ käuf-

[1]) Slowzow, Dissertation, russisch, 1900.

[2]) Linossier, Compt. rend. de la Soc. de Biologie, 1898, p. 373.

liche Präparat. Das krystallwasserhaltige Salz, das vier Moleküle Krystallwasser enthält, sollte, entsprechend der Zersetzungsgleichung $CaO_2 + H_2O = Ca(OH)_2 + O$, für je 1 g des Salzes 77 ccm Sauerstoff, auf 0° und 760 mm Barometerstand bezogen, liefern. Das käufliche Präparat enthielt weniger Krystallwasser und ergab, mit Jod und unterschwefligsaurem Natron titrirt, durchschnittlich 90 ccm Sauerstoff für 1.0 g des Calciumsuperoxyds. Je ein halbes Gramm des CaO_2 wurde mit der Toxinlösung, die 10 facher bis 1000 facher tödtlicher Dose entsprach, vermischt und im Thermostaten 10 Minuten bis 24 Stunden stehen gelassen. Da, wo die Giftdose klein war, wurde sie mit Wasser verdünnt, so dass das Volumen der Flüssigkeit 2 bis 5 ccm betrug. Nach Verlauf der bestimmten Zeit wurde die Emulsion mit etwas Wasser zu einem dünnen Brei angerührt und einem Meerschweinchen subcutan eingespritzt. An der Injectionsstelle entstanden immer subcutane Verhärtungen, von dem nicht gelösten Kalk herrührend, denn selbst in Fällen, wo die Thiere nicht die geringsten specifischen Krankheitserscheinungen zeigten und gleich in den ersten Tagen nach der Injection ihr Körpergewicht zugenommen hatte, waren die Verhärtungen an den Injectionsstellen immer vorhanden.

Wie man aus den nachfolgenden Tabellen ersieht, haben 0.5 g des Calciumsuperoxyds sowohl das Abrin wie das Diphtherie- und Tetanotoxin, auch in den stärksten Giftdosen, mit denen ich experimentirte, nach 24 stündiger, auch kürzerer Einwirkungszeit, entgiftet. Wahrscheinlich ist die entgiftende Wirkung noch viel grösser und in meinen späteren Versuchen behalte ich mir vor, die Grenzwirkung des Calciumsuperoxyds zu ermitteln. Die erhaltenen Resultate sind ohne weitere Erklärung aus den nachfolgenden Tabellen ersichtlich.

Tabelle I.

Einwirkung des Calciumsuperoxyds auf Abrin.

Tödtliche Dose Abrin = 0.001 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Calcium-superoxyds g	Einwirkungsdauer des Calciumsuperoxyds auf Abrin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	50 fache	0.5	15	350	390	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
2	100 „	0.5	20	530	580	
3	200 „	0.5	20	540	570	
4	200 „	0 25	5	370	395	
5	500 „	0.5	4	410	480	
6	500 „	0.25	4	585	630	
7	1000 „	0.5	4	420	520	
8	1000 „	0.5	4	320	—	Am 5. Tage nach d. Injection gestorben an Lungenentzündung.
9	1000 „	0.5	4	305	420	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
10	2000 „	0.5	4	600	610	
11	3000 „	0.5	5	400	410	
12	5000 „	0.5	5	360	380	

Tabelle II.

Einwirkung des Calciumsuperoxyds auf Diphtherietoxin.

Tödtliche Dose des Diphtherietoxins = 0.005 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Calcium-superoxyds g	Einwirkungsdauer des Calciumsuperoxyds auf Diphtherietoxin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	20 fache	0.5	15	440	480	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
2	100 „	0.5	20	450	490	
3	200 „	0.5	4	365	420	
4	400 „	0.5	4	560	600	
5	600 „	0.5	4	270	310	
6	1000 „	0.5	4	400	420	

Tabelle III.

Einwirkung des Calciumsuperoxyds auf Tetanotoxin.

Tödtliche Dose des Tetanotoxins = 0.005 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Calcium-superoxyds g	Einwirkungsdauer des Calciumsuperoxyds auf Tetanotoxin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	20 fache	0.5	20	380	420	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
2	50 „	0.5	20	400	460	
3	100 „	0.5	5	350	390	
4	200 „	0.5	4	300	340	
5	400 „	0.5	4	240	270	
6	600 „	0.5	4	415	450	
7	1000 „	0.5	4	430	450	

Ich theile hier gleich die Resultate der Versuche mit den Toxinen und Wasserstoffsuperoxyd mit. Wie aus den Tabellen ersichtlich, sind sie viel weniger günstig wie mit dem Calciumsuperoxyd und bei Anwendung grösserer Mengen von H_2O_2 waren sie noch schlechter.

Tabelle IV.

Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf Abrin.

Tödtliche Dose des Abrins = 0.001 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Wasserstoffsuperoxyds ccm	Einwirkungsdauer des H_2O_2 auf Abrin vor der Injection	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	50 fache	0.5	24 Std.	385	402	Am Leben.
2	50 „	1	24 „	375	400	„ „
3	100 „	1	24 „	365	—	Am 2. Tage gestorben.
4	100 „	0.5	4 Std. 30 Min.	365	295	Ist am Leben geblieben.
5	100 „	1	24 Std.	470	495	Gesund geworden.
6	100 „	0.5	24 „	440	465	„ „
7	200 „	1	24 „	415	—	Am 2. Tage gestorben.
8	500 „	1	24 „	395	315	„ 4. „ „
9	500 „	1	3 × 24 Std.	435	340	„ 8. „ „
10	1000 „	1	4 × 24 Std.	285	330	Ohne Reaktion am Leben gebl.
11	2000 „	0.5	24 St. 30 Min.	450	—	Am 2. Tage gestorben.

Tabelle V.

Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf Tetanotoxin.

Tödtliche Dose des verwendeten Tetanotoxins = 0.005 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Wasserstoffsuperoxyds ccm	Einwirkungsdauer des H_2O_2 auf Tetanotoxin vor der Injection	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	10 fache	0.5	24 Std.	385	430	Am Leben geblieben.
2	20 „	0.5	24 „	465	495	„ „ „
3	100 „	0.5	3 × 24 Std.	525	595	„ „ „
4	100 „	0.5	24 Std.	370	450	„ „ „
5	200 „	0.5	3 × 24 Std.	380	460	„ „ „
6	400 „	0.5	24 Std.	370	460	„ „ „
7	600 „	0.5	24 „	360	300	Gestorben.
8	1000 „	0.5	24 „	380	—	Gestorben am 2. Tage.
9	10 „	0.5	15 Min.	430	450	Am Leben geblieben.
10	20 „	0.5	15 „	555	600	„ „ „

Tabelle VI.

Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf Diphtherietoxin.
Tödtliche Dose des verwendeten Diphtherietoxins = 0.005 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge des Wasserstoff-superoxyds ccm	Einwirkungsdauer des H_2O_2 auf Diphtherietoxin vor der Injection	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	10 fache	0.5	24 Std.	355	370	Gesund.
2	20 „	0.5	24 „	370	410	„
3	100 „	1	2 × 24 Std.	400	430	Infiltrat. Gesund.
4	100 „	0.5	24 Std.	395	420	Gesund.
5	200 „	0.5	24 „	430	450	„
6	400 „	1	24 „	450	470	Infiltrat. Gesund.
7	400 „	0.5	24 „	480	500	Gesund.
8	600 „	0.5	24 „	360	395	Infiltrat. Gesund.
9	10 „	0.5	15 Min.	615	660	Gesund.
10	20 „	0.5	15 „	595	640	„

Versuche mit den Oxydasen.

Um wirksame Oxydasen aus der Milz, Parotis und Fibrin zu bekommen, bin ich nach mehrfachen Versuchen bei folgendem Verfahren stehen geblieben:

Fein zerkleinertes Organ resp. Fibrin wird nach Abelous und Biarnès mit dem 5- bis 10fachen Gewichte 8proc. Kalisalpeterlösung 1 bis 2 Tage unter Zusatz von Chloroform, um die Fäulniss zu verhüten, stehen gelassen. Hierauf wird die Lösung von den Gewebsresten durch ein Tuch filtrirt und in das Filtrat $SO_4(NH_4)_2$ bis zu einem Gehalte von 50 Proc. eingetragen; es entsteht ein voluminöser Niederschlag, welcher abfiltrirt und direct in einem Pergamentschlauch gegen fliessendes Wasser so lange dialysirt wird, bis im Schlauchinhalte kein Ammonsulfat mehr vorhanden ist. Da dieses Auswaschen 3 bis 4 Tage dauert, so ist es zweckmässig, dem Schlauchinhalte einige Stückchen Thymol zuzusetzen. Bei geringster Fäulniss ist die Einwirkung der Oxydasen auf Guajactinctur und auch die entgiftende Wirkung auf die Toxine vernichtet. Werden solche, gewöhnlich übel-süsslich riechende Lösungen mit etwas Wasserstoffsuperoxyd versetzt, so wird zwar die Guajactinctur dadurch intensiv gebläut, eine Entgiftung der Toxine findet aber nicht statt. Es folgt daraus, dass die entgiftende Wirkung den sogenannten indirecten Oxydasen oder, nach G. Linossier[1]), Peroxydasen nicht zukommt.

[1]) G. Linossier, Compt. rend. de la Société de Biologie, 1898, p. 373.

Der salzfrei ausgewaschene Schlauchniederschlag enthält den grössten Theil der Oxydase und in der Lösung ist nur wenig davon enthalten. Bei meinen Versuchen erwies es sich als das Zweckmässigste, diesen Niederschlag mit 0.85 proc. ClNa zu einer Emulsion zu verreiben und nach Zusatz der Toxinlösungen bei der Bruttemperatur auf die letzteren einwirken zu lassen. Man kann auch die salzfreie Oxydase abfiltriren, mit Alkohol und Aether nachwaschen und im Vacuum über SO_4H_2 trocken aufbewahren. Die Wirkung solcher getrockneten Präparate ist etwas schwächer. Bei meinen Versuchen über die entgiftende Wirkung der Oxydasen benutzte ich meistentheils den durch die Dialyse salzfrei ausgewaschenen Schlauchinhalt. Der flockige Niederschlag wurde in der Schlauchflüssigkeit zu einer Emulsion fein zerrieben und 0.5 bis 5 ccm dieser Emulsion mit den Toxinlösungen von bekanntem Giftgehalte vermischt. Der Gehalt an festem Rückstand in solcher Emulsion schwankt natürlich je nach dem Material, aus welchem sie bereitet wurde, innerhalb ziemlich weiter Grenzen. Die Emulsionen aus der Milz z. B. enthalten mehr feste Stoffe als wie die aus dem Fibrin. Ich fand in meinen Emulsionen den Procentgehalt an festem Rückstand zwischen 0.03 Proc. bis 0.1 Proc. Wie viel darin Oxydase und wie viel indifferente beigemengte Eiweissstoffe sind, das entzieht sich vorläufig jeder genaueren Bestimmung. Die Bläuung der Guajactinctur durch diese Emulsionen aus thierischem Material, wie Milz, Parotis oder Fibrin, war ziemlich gleich und bedeutend schwächer als wie durch die pflanzlichen Oxydasen, durch welche ceteris paribus die Guajactinctur intensiv blau gefärbt wird.

Aus dem oben Gesagten geht hervor, dass ich nur mit in Salpeterlösungen löslichen thierischen Globulinoxydasen, nicht aber mit den wasserlöslichen Oxydasen experimentirte. Wahrscheinlich wirken auch die wasserlöslichen thierischen Oxydasen auf die Toxine gleich wie die in Salpeter löslichen; wenigstens wurden durch die einzige wasserlösliche pflanzliche Oxydase aus der Scorzonerawurzel, mit der ich experimentirte, die Toxine ebenfalls entgiftet. Die Gemische der Oxydaseemulsionen mit den Toxinlösungen liess ich, bevor ich sie den Thieren injicirte, vorerst 15 Minuten bis 24 Stunden im Thermostaten stehen. Wie aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich, wird durch die Oxydasen relativ am energischsten das Diphtherietoxin entgiftet, indem 1 ccm der Oxydaseemulsion die 600- bis 800fache, nicht aber die 1000fache tödtliche Dose unwirksam macht. Schon schwächer ist die Wirkung auf das Tetanotoxin, indem 1 ccm der Emulsion höchstens die Wirkung der 200fach tödtlichen Dose paralysirt. Auf Abrin erwiesen sich die von mir untersuchten Oxydasen als sehr wenig wirksam, indem 1 ccm der Oxydaseemulsion nicht mehr als die einfach tödtliche Dose entgiftete. Uebrigens lasse ich jetzt die drei Tabellen folgen, aus welchen das Resultat ersichtlich ist.

Tabelle VII.

Einwirkung der Oxydase aus Kalbsmilz auf Diphtherietoxin.

Tödtliche Dose des verwendeten Diphtherietoxins = 0.005 ccm.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer der Oxydase auf Diphtherietoxin vor der Injection	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
10 fache	5	24 Std.	410	480	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
10 „	2	24 „	420	470	
20 „	5	24 „	345	400	
20 „	2	24 „	220	245	
20 „	1	24 „	375	—	
100 „	5	24 „	265	290	
100 „	2	24 „	430	455	
100 „	1	24 „	480	505	
200 „	1	24 „	265	290	
400 „	1	24 „	305	325	
500 „	1	24 „	400	415	
600 „	1	24 „	350	380	
1000 „	1	24 „	350	—	
10 „	2	15 Min.	308	325	
10 „	2	30 „	265	300	
10 „	2	1 Std.	315	345	
20 „	2	2 „	295	330	
20 „	2	5 „	400	420	
Einwirkung der Oxydase aus Parotis vom Hunde auf Diphtherietoxin.					
20 fache	2	24 Std.	380	440	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
20 „	1	24 „	245	290	
50 „	0.5	24 „	330	385	
60 „	1	24 „	410	460	
100 „	1	24 „	370	405	
200 „	1	24 „	350	390	
400 „	1	24 „	285	315	
10 „	1	15 Min.	250	280	
20 „	1	30 „	285	320	

Tabelle VIII.

Einwirkung der Oxydase aus Kalbsfibrin auf Diphtherietoxin.

Tödtliche Dose des verwendeten Diphtherietoxins = 0.005 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer der Oxydase auf Diphtherietoxin vor der Injection	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	10 fache	2	15 Min.	375	390	Alle Thiere gesund.
2	20 „	2	30 „	408	448	
3	100 „	2	4 Std.	386	420	
4	200 „	2	24 „	353	390	
5	400 „	2	24 „	348	389	
6	600 „	2	24 „	359	390	
7	800 „	2	24 „	388	405	

Einwirkung der Oxydase aus dem Fibrin von gegen Diphtherie hochimmunem Pferde auf Diphtherietoxin.

Das Serum dieses Pferdes enthielt 250 Heileinheiten in einem Cubikcentimeter.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer	Gewicht vor g	Gewicht nach g	Bemerkungen
1	10 fache	1	15 Min.	250	280	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
2	20 „	1	30 „	285	325	
3	100 „	1	5 Std.	275	310	
4	200 „	1	24 „	305	360	
5	400 „	1	24 „	310	330	
6	600 „	1	24 „	350	370	

Einwirkung der im Vacuum während zwei Monaten aufbewahrten Oxydase auf Diphtherietoxin.

0.65 g in 65 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer	Gewicht vor g	Gewicht nach g	Bemerkungen
1	10 fache	2	24 Std.	410	440	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
2	20 „	2	24 „	350	392	
3	100 „	2	24 „	385	435	
4	200 „	2	24 „	364	390	

Einwirkung der gekochten Oxydase aus Kalbsmilz auf Diphtherietoxin.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer	Gewicht vor g	Gewicht nach g	Bemerkungen
1	20 fache	2	24 Std.	350	—	Tod am nächsten Tage.
2	10 „	2	24 „	285	—	„ „ 2. Tage.
3	20 „	2	24 „	300	—	„ „ 2. „

Tabelle IX.

Einwirkung der Oxydase aus Kalbsmilz auf Tetanotoxin.

Tödtliche Dose des verwendeten Tetanotoxins = 0.005 ccm.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer der Oxydase auf Diphtherietoxin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
10 fache	2	24	425	450	Nach 30 Tagen alle Thiere gesund.
20 „	2	24	328	360	
20 „	2	24	335	380	
100 „	5	24	430	460	
100 „	5	24	520	550	
200 „	5	24	485	525	

Einwirkung der gekochten Oxydase aus Kalbsmilz auf Tetanotoxin.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer Std.	Gewicht vor der Injection g	Gewicht nach der Injection g	Bemerkungen
20 fache	2	24	450	—	Tod am nächsten Tage.
10 „	5	24	550	—	Tod am zweiten Tage.

virkung der im Vacuum während zwei Monaten aufbewahrten Oxydase auf Tetanotoxin.

0.65 g in 65 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer Std.	Gewicht vor der Injection g	Gewicht nach der Injection g	Bemerkungen
10 fache	2	24	310	380	
20 „	2	24	390	450	
100 „	2	24	350	—	Tod.

Einwirkung der Oxydase aus Hundeparotis auf Tetanotoxin.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer Std.	Gewicht vor der Injection g	Gewicht nach der Injection g	Bemerkungen
2 fache	0.1	21	465	495	Alle Thiere gesund.
2 „	0.5	21	370	398	
4 „	0.1	21	350	—	
10 „	0.5	21	380	425	
20 „	1	21	460	490	
100 „	0.5	21	490	500	Schwacher Tetanus, nachher gesund.
100 „	0.5	48	465	480	
100 „	1	21	290	330	Gesund geblieben.

Einwirkung der Oxydase aus Kalbsfibrin auf Tetanotoxin.

Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer Std.	Gewicht vor der Injection g	Gewicht nach der Injection g	Bemerkungen
10 „	2	24	450	490	Alle Thiere gesund.
20 „	2	24	375	430	
100 „	2	24	320	460	

Einwirkung der Oxydase aus dem Fibrin von gegen Diphtherie hochimmunen Pferden auf Tetanotoxin.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer der Oxydase auf Tetanotoxin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	10 fache	2	24	395	435	Alle Thiere gesund.
2	20 „	2	24	595	650	
3	100 „	2	24	640	680	
4	200 „	2	24	600	620	

Wie aus den Tabellen Nr. VIII und IX ersichtlich ist, hat das Fibrin aus dem Blute des gegen Diphtherie immunisirten Pferdes eine Emulsion gegeben, wovon 2 ccm die 200fach tödtliche Tetanotoxindose und 1 ccm die 600fach tödtliche Dose des Diphtherietoxins entgiftete. Das Meerschweinchen, das ein Gemisch von 1 ccm Emulsion mit der 1000fachen Diphtherietoxindose erhielt, ist dagegen an Diphtherie gestorben. Dass die entgiftende Wirkung dieser Oxydase nicht etwa davon herrührt, dass das Fibrin mechanisch das Antitoxin mitgerissen habe, geht schon daraus hervor, dass es auch das Tetanotoxin, wenn auch etwas schwächer, entgiftet. Ich habe ferner gesehen, dass proportional der Immunisation auch die Menge der Oxydase zunimmt. Oxydase aus dem Fibrin eines Pferdes, das nur 80 Antitoxineinheiten in seinem Serum hatte, bläute Guajactinctur nur ganz schwach, schon stärker war die Bläuung durch die Oxydase eines Pferdes mit 120 Antitoxineinheiten. Am intensivsten aber bläute die Oxydase des Pferdes mit 250 Antitoxineinheiten. Bis jetzt habe ich meine Beobachtungen an vier immunisirten und zwei normalen Pferden angestellt. Weitere Versuche werden zeigen, ob diese Proportionalität eine wirklich constante ist. Eine zweite, auffällige Erscheinung, welche das Fibrin gegen Diphtherie immuner Pferde im Vergleich zu dem der normalen zeigt, ist folgende: Wird das Fibrin durch spontane Gerinnung des farblosen Plasmas gewonnen, von dem anhängenden Serum abgepresst, mit Wasser ausgewaschen und sodann mit 8proc. Kalisalpeter unter Zusatz von Chloroform 24 Stunden im Thermostaten stehen gelassen, so geht ein Theil des Fibrins in Lösung über und zwar enthält bei immunen Pferden der gelöste Theil die Oxydase. Wird nun die filtrirte Lösung mit dem doppelten Volumen 96proc. Alkohols versetzt, so bildet sich bei normalen Pferden eine Trübung, die erst nach 10 bis 20 Minuten sich flockig, wie geronnenes Eiweiss, zusammenballt und zu Boden setzt. Versetzt man dagegen ceteris paribus die Lösung von immunen Pferden mit dem doppelten Volumen 96proc. Alkohols, so entstehen schon in den ersten Minuten nach dem Vermischen längere Schleimfäden, die sich in kürzester Zeit zusammenballen und zu Boden setzen. Die Erscheinung erinnert an das Ausfällen von Mucin aus Schleimflüssigkeiten durch Alkohol und ist so auffallend im Vergleich zu dem Verhalten der Extracte von normalen Pferden, dass sie sicher auf einer chemischen Verschiedenheit der aus dem Fibrin entstandenen Substanzen beruht. Je höher das Pferd immunisirt ist, um so mehr geht von dem

Fibrin in die Salpeterlösung über und um so prägnanter ist die Erscheinung nach Alkoholzusatz. Während der durch Alkohol erzeugte und abfiltrirte Niederschlag aus dem Blute normaler Pferde durch Guajactinctur nicht gebläut wird, bläut dieser Niederschlag aus dem Blute immuner Pferde die Guajactinctur um so intensiver, je immuner das Pferd gegen die Diphtherie ist.

Dieser auffällige Unterschied in dem Verhalten des Fibrins diphtherieimmuner Pferde fordert auf zu vergleichenden Untersuchungen des Fibrins gegen andere Infectionskrankheiten immunisirter Thiere und eröffnet den Weg zur experimentellen Erforschung der chemischen Vorgänge bei der Immunisation. Meine bisherigen, Beobachtungen sind wenig zahlreich, um noch weitere Schlüsse zu ziehen, aber ich setzte meine Untersuchungen nach dieser Richtung weiter fort und hoffe bald noch mehr interessante Aufklärungen über die Immunität zu ermitteln. Ich benutze hier die Gelegenheit, Herrn Dr. Dzierzgowski, dem ich das Blut der gegen Diphtherie in verschiedenen Stadien immunisirten Thiere verdanke, meinen besten Dank dafür auszusprechen.

Von grossem Werthe wird auch die Ermittelung der Thatsache sein, in welcher Beziehung die Oxydase zu den Antikörpern steht, denn schon die Thatsache, dass das Blut der immunisirten Pferde Oxydase enthält, das der normalen aber nicht, deutet auf eine gewisse Beziehung dieser beiden Substanzen zu einander.

Pflanzliche Oxydase.

Ausser den genannten thierischen Oxydasen habe ich auch eine pflanzliche, von mir aus der Schwarzwurzel (Scorzonera hispanica) dargestellte Oxydase auf ihre Wirkung gegen die Toxine untersucht.

Bekanntlich hat G. Bertrand[1]) und schon vor ihm der Japaner Hikorokuro Joschida in der Rinde der im südöstlichen Asien einheimischen Rhus-Arten eine stark oxydirende Substanz gefunden. Die späteren umfangreichen Untersuchungen von G. Bertrand, zum Theil mit Bourquelot[2]) ausgeführt, ergaben, dass die Oxydasen mehr oder weniger in allen Pflanzen und in verschiedenen Theilen derselben — in Wurzeln, Knollen, Früchten, chlorophyllhaltigen Theilen derselben und in vielen Pilzen — vorkommen. G. Bertrand benannte diese Oxydasen mit dem Namen „Laccase". Im Gegensatz zu den thierischen Oxydasen wirken die pflanzlichen auch bei saurer Reaction. Es war nun interessant, zu ermitteln, wie sich die pflanzlichen Oxydasen gegen die von mir untersuchten Toxine verhalten werden. Da ich schon früher die Beobachtung machte, dass der wässerige Auszug der Schwarzwurzel Guajactinctur stark bläut, so habe ich mit der darin enthaltenen Oxydase meine Versuche angestellt. Die frisch vom Markte geholte Schwarzwurzel wurde oberflächlich mit dem Messer durch Abschaben gereinigt, sodann klein zerschnitten, mit chloroformhaltigem Wasser übergossen und 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der durch Tuch colirte wässerige Auszug,

---

[1]) G. Bertrand, Compt. rend. **120**, 266 (1895).
[2]) G. Bertrand und E. Bourquelot, Compt. rend. **121**, 783 (1895).

welcher die Guajactinctur intensiv bläute, wurde mit pulverigem Ammoniumsulfat übersättigt, der entstandene flockige Niederschlag abfiltrirt und vom Ammonsulfat durch Dialyse befreit. Um die so erhaltene Oxydase, die stark Guajactinctur bläute, zu reinigen, wurde sie von Neuem in Wasser gelöst, aus der Lösung durch Ammonsulfat ausgefällt und durch Dialyse von dem letzteren befreit. Das so erhaltene Product war etwas grau gefärbt und gab alle für die Oxydasen charakteristischen Reactionen. Kurzes Aufkochen genügte, um diese oxydirende Wirkung zu zerstören. Da die so isolirte Oxydase zur vollkommenen Auflösung ziemlich viel Wasser brauchte, so habe ich auch hier nach beendeter Dialyse den flockigen Niederschlag in der Schlauchflüssigkeit fein zerrieben, vermischte die entstandene Emulsion mit den Toxinlösungen von bekanntem Giftwerthe und liess, wie mit thierischen Oxydasen, die Gemische 24 Stunden im Thermostaten stehen. Wie aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich, wirkt diese Oxydase auf das Abrin nicht ein. Dagegen wurden durch 2 ccm der Emulsion die 100fach tödtlichen Dosen von Diphtherie- und Tetanotoxin entgiftet.

Tabelle X.

Einwirkung der Oxydase aus der Schwarzwurzel auf Abrin.

Tödtliche Dose = 0.001 ccm.

	Zahl der injicirten einfach tödtlichen Giftdosen	Menge der Oxydase ccm	Einwirkungsdauer der Oxydase auf Toxin vor der Injection Std.	Gewicht des Meerschweinchens vor der Injection g	Gewicht des Thieres 2 Wochen nach der Injection g	Bemerkungen
1	10 fache	2	24	360	—	Am 6. Tage todt.
2	50 „	2	24	370	—	„ 3. „ „
3	100 „	2	24	350	—	„ 3. „ „
4	200 „	2	24	350	—	Tod in der Nacht.
	Auf Tetanotoxin (tödtliche Dose = 0.005 ccm).					
5	10 fache	2	24	400	440	Infiltrate an den Injectionsstellen, sonst gesund.
6	20 „	2	24	380	410	
7	100 „	2	24	490	535	
	Auf Diphtherietoxin (tödtliche Dose = 0.005 ccm).					
8	10 fache	2	24	295	235	Infiltrate an den Injectionsstellen, sonst gesund.
9	20 „	2	24	400	415	
10	100 „	2	24	356	370	

Schlussfolgerungen.

1. Das Calcium- und Wasserstoffsuperoxyd wirken auf die Toxine der Diphtherie, des Tetanus und das Abrin entgiftend. Die gleiche Wirkung haben die thierischen, sowie pflanzlichen Oxydasen auf die zwei ersten Toxine, nicht aber auf das Abrin.

2. Die entgiftende Wirkung der Oxydasen geschieht nicht nur in vitro, sondern auch im Thierkörper selbst bei gleichzeitiger Einspritzung einerseits der Toxine, andererseits der Oxydasen in verschiedene Körperstellen.

3. Aus dem Fibrin normaler Pferde wird keine Oxydase mittelst Kalisalpeter extrahirt, wohl aber aus dem Fibrin gegen die Diphtherie immunisirter Pferde.

4. Die Entgiftung der Toxine durch Oxydasen findet nur dann statt, wenn die letzteren die Guajactinctur direkt bläuen. Extracte, welche auf Guajactinctur nicht mehr wirksam sind, sind ohne Wirkung auf die Toxine.

Beitrag zum Studium der Einwirkung der Verdauungsfermente auf das Abrin und über das Schicksal des letzteren im Magendarmcanal

von

S. Dzierzgowski und **N. Sieber.**

Arch. des sciences biolog. **8**, 461. — Nach dem Referate von Dr. Burian abgedruckt. Chem. Centralbl. **73**, I, 886.

Bekanntlich wirkt Abrin bei Einverleibung per os sehr viel (etwa 2000 mal) schwächer, als bei subcutaner Injection [Glinka [1]), Hellik]; dieser grosse Unterschied wurde bisher entweder auf eine Zerstörung des Abrins durch die Verdauungsfermente oder aber auf ungenügende Resorption des verfütterten Abrins zurückgeführt. In einer sehr eingehenden Untersuchung bestätigen Verff. zunächst das Vorhandensein des erwähnten grossen Unterschiedes; ferner zeigen sie einerseits, dass die Verdauungsfermente bei künstlicher Digestion die Wirkung des Abrins zwar etwas abschwächen, jedoch lange nicht in dem Maasse, um den besprochenen Unterschied verursachen zu können, und andererseits, dass auch von mangelhafter Resorption des Abrins nicht die Rede sein kann, da verabreichtes Abrin nur zu einem geringen Theile unverändert mit dem Kothe ausgeschieden wird. Da sich das Gift dagegen im Mageninhalte nachweisen lässt, so muss es offenbar im Darmcanale in ein Toxoid übergehen und in unschädlicher Form resorbirt werden. Das Abrin geht durch Chamberland- und Kitasato-Filter hindurch.

[1]) Dieser Band S. 223.

Ueber die Ammoniakabspaltung bei der Einwirkung von Trypsin und Pepsin auf Eiweisskörper

von

S. Dzierzgowski und **S. Salaskin.**

Centralbl. f. Physiol. **15**, 249. — Gazeta Lekarska No. 35 (1901). — Nach dem Referate von Dr. Burian abgedruckt. Chem. Centralbl. **72**, II, 645.

Da alle älteren Angaben über Ammoniakabspaltung aus dem Eiweiss bei dessen peptischer und tryptischer Verdauung auf Versuchen beruhen, die mit unzuverlässigen Methoden ausgeführt sind, haben Verff. die Frage nochmals untersucht, und zwar unter Anwendung des Nencki-Zaleski'schen Verfahrens zur Ammoniakbestimmmung unter Benutzung natürlicher Verdauungssäfte. Um Bacterienwirkung auszuschliessen, wurden die letzteren durch Chamberland-Filter filtrirt und mit dem zu verdauenden Eiweisskörper (unter Zusatz von Chloroform) in sterilisirte Gefässe eingeschmolzen. — Es ergab sich, dass sowohl bei der peptischen wie bei der tryptischen Verdauung von Fibrin, gekochtem Eiereiweiss, krystallisirtem Eieralbumin und Caseïn Ammoniak entsteht. Die gebildete Ammoniakmenge ist bei den verschiedenen Eiweissstoffen verschieden; sie ist in allen Fällen grösser als bei blosser Digestion mit verdünnter Säure oder verdünntem Alkali ohne Ferment, aber stets niedriger als das bei der totalen Säurespaltung des betreffenden Eiweisskörpers entstehende Ammoniakquantum. Die bei protrahirter Verdauung eines Eiweissstoffes abgespaltene Ammoniakmenge entspricht also niemals dem gesammten „Amid"-Stickstoff desselben.

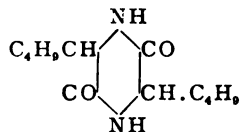
Ueber die Bildung des Leucinimids bei der peptischen und tryptischen Verdauung des Oxyhämoglobins, resp. des Globins

von

S. Salaskin.

Zeitschr. f. physiol. Chemie **32**, 592. — Nach dem Referate von Dr. Burian abgedruckt. Chem. Centralbl. **72**, II, 495.

Das Leucinimid

$$\begin{array}{ccc} & NH & \\ C_4H_9CH & & CO \\ CO & & CH.C_4H_9 \\ & NH & \end{array}$$

ist, abgesehen von seiner synthetischen Darstellung aus dem Leucin, bisher nur als Product der Säurespaltung der Eiweisskörper erhalten worden. Verf. gelang es

nun aber, dasselbe auch bei protrahirter peptischer und tryptischer Verdauung von Oxyhämoglobin (bezw. Globin) nachzuweisen. Diese Leucinimide sind aber mit einander nicht identisch. Die aus der tryptischen Verdauung stammenden Leucinimidkrystalle sind in Solventien (heisses Wasser, heisser Alkohol, Aether, Essigester) schwerer löslich, als die bei der peptischen Verdauung erhaltenen, und zeigen constant den Schmelzp. 295 bis 296°, während die letzteren keinen constanten Schmelzpunkt besitzen, sondern in verschiedenen Darstellungen bei 250 bis 274° schmolzen. Aehnliche Unterschiede sind bereits zwischen dem synthetischen und dem durch Eiweissspaltung dargestellten Leucinimid beobachtet worden. Während das erstere den Schmelzpunkt 269 bis 270° besitzt und anscheinend mit dem aus der peptischen Verdauung stammenden Leucinimid identisch ist, hat das von Cohn bei der Hydrolyse von Eiweissstoffen erhaltene Leucinimid, gleich dem durch tryptische Verdauung gewonnenen Producte, den Schmelzp. 295 bis 296°. Es scheinen also verschiedene isomere Leucinimide zu entstehen. Verf. glaubt, dass dieselben nicht etwa secundäre Umwandlungsproducte von primär aus den Eiweisskörpern abgespaltenem Leucin darstellen, sondern dass sie vielmehr im Eiweissmolekül bereits vorgebildet enthalten sind.

Ueber die Spaltungsproducte des Pferdeglobins

von

D. Lawrow.

Chemische u. medic. Untersuchungen, Festschrift für M. Jaffe, Braunschweig 1902. — Ber. **34**, 101. — Nach dem Referate von Prof. R. Andreasch abgedruckt. Maly's Jahresber. **31**, 27. — Diese und die folgende Arbeit bilden eine Fortsetzung der unabhängigen Untersuchungen, welche Verfasser in einem anderen Laboratorium angefangen hat.

Verf. untersuchte die bei der Spaltung des Pferdeglobins auftretenden Hexonbasen. Getrocknetes Oxyhämoglobin (317 g) wurden mit 60 g Zinn und 21 g 20 proc. Salzsäure zuerst am Wasserbade auf 50 bis 60 Proc., hierauf auf dem Sandbade 72 Stunden gekocht. Nach Entfernung des Zinns aus der verdünnten Lösung wurde die Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäurelösung gefällt, der ausgewaschene und abgepresste Niederschlag bei 60 bis 65° durch Barytwasser zerlegt, das Filtrat mit Kohlensäure behandelt und eingeengt. Die Menge der so erhaltenen basischen Substanzen betrug 20.3 Proc. vom Gewichte des Globins. Es wurden alle drei Hexonbasen, Histidin, Arginin und Lysin, isolirt. Die zwei erstgenannten Substanzen werden von der letzten nach der Methode von A. Kossel (Maly's Jahresber. **28**, 36) und von einander nach dem Verfahren von Hedin (Maly's Jahresber. **26**, 13) ge-

trennt. In grösster Menge (12.4 Proc. des Basengemisches) war Histidin vorhanden, wodurch das genannte Globin sich von anderen Histonen und Eiweisskörpern unterscheidet. Es ist sogar leicht zugängliches Pferdehämoglobin ein für die Gewinnung von Histidin geeignetes Material.

Zur Kenntniss des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweisskörper

von

D. Lawrow.

Zeitschr. f. physiolog. Chem. **33**, 312. — Nach dem Referate von Prof. O. Loew abgedruckt. Maly's Jahresber. **31**, 53.

Diese Arbeit des Verf. ist eine Fortsetzung seiner früheren Arbeiten von 1899 (Maly's Jahresber. **29**, 55), in denen er schon die Bildung von Leucin bei sehr lange fortgesetzter peptischer Verdauung constatirt hatte. Es wurden 12 kg in kleine Stücke zerschnittener Schweinemagen mit 20 Liter Wasser, enthaltend 0.5 Proc. HCl, unter Zusatz von Chloroform und Thymol zwei Monate lang der Selbstverdauung unterworfen. Selbst nach dieser Zeit war noch kräftig verdauendes Pepsin vorhanden. Als nun mit Aetznatron neutralisirt und eingedampft wurde, schied sich ein krystallinischer Brei aus, der, abgepresst und getrocknet, 1.5 kg wog. Nach Entfärbung mittelst Thierkohle und Eindampfen der Lösung zur Krystallisation wurden 153 g einer Krystallmasse erhalten, die hauptsächlich aus Leucin bestand. Die Mutterlauge von diesen Krystallen wurde verdünnt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt. Aus diesem Niederschlag wurden in üblicher Weise die basischen Substanzen mit Baryt in Freiheit gesetzt. Aus diesem Basengemisch wurden die Purinbasen mit Silbernitrat entfernt und im Filtrat nach Arginin und Histidin gesucht, aber vergeblich; dagegen konnten Putrescin und Cadaverin als Pikrate abgeschieden und identificirt werden. Tyrosin liess sich unter den oben erwähnten krystallinischen Producten nicht nachweisen. Millon's Reaction wurde nicht erhalten. Verf. schliesst, dass das Pepsin bei langer Einwirkung ebenso weit die Eiweisskörper spaltet als Trypsin.

Ueber hämolytisches Serum durch Blutfütterung

von

S. Metalnikow.

Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **29**, 531. — Referirt von den Herausgebern.

Verf. studirte die Frage, ob durch Fütterung mit Blut, gleich wie bei subcutaner Verabfolgung des Blutes, ein cytotoxisches, resp. hämolytisches Serum zu erhalten ist. Die Versuche wurden an weissen Ratten und Kaninchen, welche mit Pferdeblut gefüttert wurden, angestellt. Nach ein bis zwei Monate dauernder Fütterung gewonnenes Rattenserum äusserte eine hämolytische Wirkung auf Pferdeblut, und zwar wurde 1 Vol. Pferdeblut durch 4 Vol. Rattenserum im Laufe von 10 bis 15 Minuten gelöst; die letzteren Versuche wurden im hängenden Tropfen ausgeführt. Beim Erhitzen auf 55° C. geht die hämolytische Kraft dieses Serums verloren, bei Zusatz von normalem Serum hiernach kommt sie wieder zum Vorschein.

An Kaninchen, deren Serum an und für sich schwache agglutinirende, sowie hämolytische Wirkung auf Pferdeblut ausübt, wurden die Versuche in der Weise angestellt, dass den Thieren das Pferdeblut per Schlundsonde in den Magen eingebracht wurde. Das Serum solcher Thiere gewinnt schon am siebenten und zehnten Tage bedeutend an hämolytischer Kraft. Die entsprechenden Versuche wurden nicht nur mikroskopisch im hängenden Tropfen, sondern auch makroskopisch im Probirgläschen ausgeführt. Hierbei stellte sich heraus, dass 1 Vol. Kaninchenserum mit 4 Vol. einer 5 proc. Pferdeblutlösung in 0.85 NaCl vermischt, eine erhebliche Lösung der Blutkörperchen verursacht.

Durch diese Versuche wurde somit nachgewiesen, dass bei Thierfütterung mit Blut ein, dem durch subcutane Injection gewonnenen analoges cytotoxisches, resp. hämolytisches Serum erhalten werden kann.

Zur Kenntniss des Hämolysins des Bacillus pyocyaneus

von

S. Weingerow.

Centralbl. f. Bacter. u. Parasitenk. **29**, 777. — Referirt von den Herausgebern.

Die in der Mittheilung beschriebenen Versuche haben die Wirkung des Pyocyaneus-Toxins resp. -Hämolysins auf das Blut verschiedener Warm- und Kaltblüter, wie Kaninchen, Meerschweinchen, Schaf, Pferd, Ochs, Büffel, Hund, Taube, Maus und Frosch, zum Gegenstande. Die verwandten Toxine waren von verschiedenem Virulenzgrade, sie kamen einerseits unfiltrirt, andererseits durch Chamberlandkerzen F

filtrirt zur Verwendung. Als Ergebniss dieser Versuche ist zu notiren, dass von dem Pyocyaneus-Hämolysin am stärksten die Blutkörperchen vom Hunde, dann die vom Pferde, Meerschweinchen, Kaninchen u. s. w. gelöst wurden. Weiter konnte ermittelt werden, dass ein halbstündiges Erwärmen der Pyocyaneuscultur auf 120° C. weder Toxicität noch hämolytische Wirkung desselben abschwächt resp. zerstört. Durch Pepsin und Trypsin wird das Pyocyaneus-Hämolysin wohl, das toxische Princip aber nicht angegriffen.

Die Rolle der Immunkörper und Agglutinine bei der passiven Immunität

von

F. Tschistowitsch.

Извѣстія Воен. Медицинск. Академіи, Петербургъ. Jahrgang 1901, S. 101. — Referirt von den Herausgebern.

In vorliegender Arbeit hat Verf. die Frage von dem Mechanismus der Einwirkung des Immunkörpers Ehrlich's, resp. der Subst. sensibilisatrice Bordet's oder Phylocytase Metschnikow's, zu lösen gesucht. In Anbetracht dessen, dass in Bezug auf die Hämolyse des Immunkörpers zur Zeit, wo vorliegende Untersuchung im Gange war, die interessante Abhandlung von Prof. Sawtschenko erschienen war, wurde vom Verf. das Verhalten der Immunkörper gegenüber Bacterien und speciell den Bacterien des Unterleibstyphus studirt. Es sollte aufgeklärt werden, ob die Phylocytase resp. der Immunkörper, welcher bei passiver Immunität gebildet wird, sich auch an Mikroben fixiren lässt und ob hierbei letztere ihre Virulenz verändern resp. einbüssen oder ihre Beweglichkeit und ihre raschere Auflösung beeinflusst wird, oder aber ob die Einwirkung der Phylocytase sich in diesem Falle ebenfalls auf Phagocyten bezieht, indem ihr chemotactisches Vermögen durch Phylocytase im bestimmten Sinne verändert wird, wie Sawtschenko dieses für Hämolyse nachgewiesen hat.

In erster Linie wurde ein antityphöses Immunserum von Kaninchen, d. h. eine wirksame Phylocytase resp. ein Immunkörper gewonnen und dann versucht, diesen Immunkörper an Typhusbacillen zu fixiren, um zu erfahren, welche Veränderungen die so bearbeiteten Bacillen bei Einführung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen hervorrufen. Andererseits wurde ein für Leukocyten toxisches Serum angefertigt: zu diesem Zwecke wurde einer Serie von Kaninchen Meerschweinchenblut, einer anderen Serie derselben Thiere eine Emulsion aus Milz und Knochenmark von Meerschweinchen injicirt; die letzteren Einspritzungen wurden von den Kaninchen schlecht vertragen, weshalb die Thiere nach drei Einspritzungen, zwecks Gewinnung ihres Serums, durch Verblutung getödtet wurden.

Die Virulenz der 24 stündigen Typhuscultur, mit welcher gearbeitet wurde, betrug für Meerschweinchen 0.5 bis 1.0 ccm, welche Dosis in 12 bis 15 Stunden den Tod der Thiere herbeiführte.

Das Ergebniss der angestellten Versuche war folgendes. 1. Maceration der Typhusbacillen in dem Immunserum verändert dieselben in dem Maasse, dass sogar nach Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung die drei- bis vierfache Dosis letalis nicht im Stande ist, Thiere zu tödten. 2. Eine gleichzeitige Einverleibung des leukotoxischen Serums (welches sich in diesem Falle als ein ziemlich schwaches Serum erwies) bewirkte einen viel rascheren letalen Ausgang, als wie bei den Controlthieren.

Eine andere Reihe von Versuchen, welche den hierbei sich abspielenden Vorgang zu ermitteln bezweckten, wurde unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen, sowie an in bestimmten Zeitintervallen angefertigten und gefärbten Strichpräparaten aus dem Bauchhöhlenexsudat angestellt und führte zu dem nämlichen Ergebniss. Als solches muss verzeichnet werden, dass Typhusbacillen, welche die Phylocytase resp. Agglutinine an sich fixirt haben, unschädlich sind, da sie in Folge von Phagocytose sehr schnell aus der Bauchhöhle verschwinden. Es ist unaufgeklärt geblieben, ob die Thiere auch ohne Phagocytose, sondern nur in Folge der Einwirkung der bactericiden Eigenschaften des Exsudates, resp. Auflösung der Bacterien durch die Alexine der Bauchhöhle, sich gegen die schädliche Einwirkung derselben schützen können.

Ueber das Calciumsuperoxyd (Gorit) und seine therapeutische Anwendung

von

S. Hornstein.

Archives internationales de Pharmacodynamie 8, 429.
— Referirt von den Herausgebern.

Vom Verf. wurden Calciumsuperoxyd resp. Gorit, sowie Wasserstoffsuperoxyd einerseits auf ihre antiseptische, andererseits auf ihre antitoxische Wirkung gegen Cyankalium geprüft. Die antiseptische Wirkung des Gorits wurde in erster Linie an Reinculturen von Bacillus coli comm. cholerae asiat., typhi abdom., pyocyaneus, sowie von Staphylococcus aureus bestimmt, wobei vergleichend, in derselben Richtung, auch die Wirkung des Kalkhydrats, sowie des Wasserstoffsuperoxyds studirt wurde. Das Ergebniss dieser Versuche war, dass sowohl dem Calciumsuperoxyd, als auch dem Kalkhydrat antiseptische Kraft zukommt, welche jedoch schwächer ist, als wie diejenige des Wasserstoffsuperoxyds. In weiteren Versuchen wurde das Gorit zur Munddesinfection verwandt; auf Grund dieser letzten Versuche kann das Gorit zur Munddesinfection, resp. in der zahnärztlichen Praxis empfohlen werden.

— In den Versuchen, welche zwecks Ermittelung der antitoxischen Wirkung des Gorits resp. Wasserstoffsuperoxyds gegen Cyankalium angestellt wurden, konnte constatirt werden, dass Calcium-, Natrium- und Wasserstoffsuperoxyd nur eine tödtliche oder diese etwas überschreitende Dosis entgiften können. Gorit besitzt als Antidotum bei Blausäurevergiftung vor Wasserstoffsuperoxyd den Vortheil, dass er, selbst in grösseren Dosen per os einverleibt, unschädlich ist.

Ein Beitrag zur Frage von der Vererbung der künstlichen Immunität gegen Diphtherie

von

S. Dzierzgowski.

Arch. des sciences biolog. 8, 429. — Gazeta Lekarska (1901), Nr. 15, 16. — Nach dem Referate von Prof. S. Bondzyński abgedruckt. Maly's Jahresber. 31, 982.

Bereits früher [1]) hatte der Verf. darauf hingewiesen, dass die Immunität eher von der Mutter als vom Vater auf die Nachkommenschaft übertragen wird. Dafür, dass die vom mütterlichen Organismus vererbte Immunität keine active ist, sprach die Erfahrung, dass dieselbe von kurzer Dauer ist. Ihre passive Natur wäre bewiesen, wenn es gelingen würde, den Uebergang des Antitoxins aus dem mütterlichen Blute in die Eier zur Zeit der Reifung derselben in den Graaf'schen Follikeln nachzuweisen. Zur Beantwortung dieser Frage hat der Verf. Versuche an Hühnern angestellt. Zu dem Zweck wurden zwei eiertragende Hühner Anfangs durch Injectionen von Diphtherietoxin allein (und zwar von drei steigenden Gaben von 0.01, 0.05 und 0.1 ccm eines Toxins, dessen 0.01 ccm ein Meerschweinchen tödtete), später durch Einspritzungen des Diphtherietoxins (in sechs Gaben von 0.1 bis 2.5 ccm) unter gleichzeitiger subcutaner Behandlung mit dem Antitoxin gegen Diphtherievirus immunisirt. Im Laufe dieser Immunisirungsversuche wurden von den Hühnern 42 Eier abgelegt. Es wurden nun theils die Eier direct als solche, theils die aus denselben entwickelten Embryonen und Hühnchen auf Antitoxin untersucht. Das Antitoxin wurde nach der Immunisirung der Hühner in der That in den Eiern gefunden, jedoch nur im Eigelb (das Eigelb nichtimmunisirter Thiere enthielt kein Antitoxin) und zwar in 1 ccm in einer Menge, welche 0.1 bis 1.0 Immunitätseinheiten entsprach. Von sieben Hühnchen wurden vier gleich nach der Geburt, drei dagegen sechs Tage später untersucht, indem das Blut und die sonstigen Gewebe, die letzteren nach einer geeigneten Vorbereitung (Entblutung, Entfernung der Eingeweide und Bereitung eines Auszuges aus den zerkleinerten Geweben mit 0.7 proc. Kochsalzlösung) getrennt auf den Gehalt an Antitoxin geprüft wurden. Im Blute wurden grössere Mengen, in anderen Geweben geringe Mengen von Antitoxin

[1]) Dieser Band S. 789.

gefunden. Um über die chemische Natur des im Eigelb gefundenen Antitoxins Aufschluss zu erhalten, wurde das Gelb von vier oder sechs Eiern nach der Verdünnung mit Wasser (20 bis 30 ccm) und nach mehrmaligem Ausschütteln mit Aether der Dialyse unterworfen: der Niederschlag, welcher dabei ausfiel, wurde frei von Antitoxin gefunden, während die ganze im Eigelb vorhanden gewesene Menge des Antitoxins im Filtrate von dieser Fällung gelöst zurückblieb. Dieses Filtrat liess sich ohne Verlust seiner antitoxischen Eigenschaften durch eine Chamberland'sche Kerze filtriren, woraus zu schliessen wäre, dass das Antitoxin mit dem Dotterglobulin verwandt ist, oder, da es für einen globulinartigen Proteïnstoff gehalten wird, jedenfalls zu den durch Dialyse nicht fällbaren Globulinen zu rechnen wäre.

De l'immunisation contre la peste bovine dans la région Transbaïcalienne pendant les années 1899, 1900 et 1901

par

W. Wyżnikiewicz.

Arch. des sciences biolog. **9**, 133.

Après un grand nombre de tentatives infructueuses pour combattre la peste bovine dans l'Europe occidentale au moyen des injections préventives, ces dernières ont été complètement abandonnées; on décida que le mieux était encore de tuer les animaux malades et d'établir des quarantaines, ce qui, en réalité, fit complètement disparaître l'épizootie de peste bovine. En Russie on pratiqua encore pendant assez longtemps des injections préventives, mais les résultats en furent si peu encourageants que l'on a fini par acquérir la conviction que le seul moyen sûr pour lutter contre l'épidémie c'était de sacrifier les animaux infectés et d'établir des mesures quarantenaires. Ce fut la conclusion à laquelle fut amenée en 1874 la Commission composée des professeurs Jessen et Ravitch et du médecin vétérinaire Medwedsky.

Les procédés d'immunisation contre la peste bovine ont été les mêmes en Russie qu'à l'étranger. On employait à cet effet le liquide lacrymal, le mucus nasal et la salive des animaux malades. Pour les injections préventives, on a essayé d'employer du virus pesteux atténué, dilué dans de l'eau ou de le glycérine. Or, on ne tarda pas à s'apercevoir que le virus ainsi dilué agit tantôt aussi énergiquement que lorsqu'il n'est pas dilué, tantôt n'agit pas du tout, si la dilution est prononcée. On a cherché également à atténuer le virus pesteux en le conservant un temps plus ou moins long; dans ce cas, le virus devenait en effet de plus en plus faible et finissait par perdre complètement sa toxicité. Malgré de nombreuses expériences, on n'est pas cependant parvenu à trouver le degré de dilution nécessaire pour le but que l'on se proposait. Les injections faites à titre préventif étaient ou mortelles, ou si faibles qu'elles ne pouvaient pas préserver les animaux de la mort. On a pensé que le meilleur moyen pour atténuer le virus pesteux consistait à faire un grand

nombre de passages d'un animal à l'autre. Il a été dépensé beaucoup d'efforts et d'argent pour essayer ce moyen et on a vu qu'il n'est pas du tout applicable à la peste. Ainsi, par exemple, à la suite de l'inoculation de virus de la première génération, la mortalité a été de 31 %, or, l'inoculation de virus de la sixième génération fournit une mortalité de 33 %. On a vu de la sorte que même après le dixième passage les pertes peuvent être supérieures à celles que l'on a après le premier.

La pratique des injections préventives pour la lutte contre la peste bovine fut rejetée à l'unanimité à la Conférence internationale des vétérinaires à Vienne, au mois de mars 1872; si on y ajoute qu'à cette époque-là la peste a complètement disparu dans l'Europe occidentale, on comprendra pourquoi cette question si importante tant au point de vue scientifique que pratique, ne fut pas étudiée par les savants européens. Quant à la Russie, il n'y a pas encore bien longtemps que la peste sévissait sur une très grande étendue de ce pays, mais en raison de certaines circonstances peu favorables, l'étude de cette question n'avançait que très lentement, puis elle a été suspendue complètement après la promulgation de la loi du 3 juin 1879, en vertu de laquelle tout animal atteint de peste devait être tué. Ce n'est qu'à partir de l'année 1892 que, sur l'initiative de Son Altesse le Prince Alexandre Petrowitch d'Oldenbourg, on aborda de nouveau l'étude de la peste bovine à la section épizootologique de l'Institut de Médecine Expérimentale, dirigée par le professeur Semmer. Ces recherches ont été exécutées en partie dans la propriété Magdenko, Gouvernement de Poltawa, et en partie à l'Institut de Médecine Expérimentale. On fit des injections préventives avec du virus pesteux, que l'on atténuait en le faisant passer par le cobaye ou bien en le soumettant à l'action des températures élevées ou basses. Par des raisons indépendantes de sa volonté, le professeur Semmer n'a pas pu mener à bonne fin ses recherches; il a pu cependant en tirer cette conclusion que les injections préventives pourront permettre de combattre la peste sans que l'on ait besoin de recourrir au procédé barbare de mise à mort et sans faire de grandes dépenses matérielles.

Les recherches sur la peste bovine entreprises à l'Institut de Médecine Expérimentale, ont été suivies par toute une série de travaux exécutés dans la même voie.

Ainsi, le professeur Rajewsky a télégraphie au „Nouveau Temps" à la fin de 1893 (5 novembre) que le docteur Nagorsky a réussi à conférer à des veaux, à l'Institut vétérinaire de Kharkow, l'immunité contre la peste bovine en leur injectant du lait provenant d'une vache guérie de peste; ce fait a été le point de départ d'une série de recherches sur le sang et le sérum des animaux malades.

Une communication aussi importante ne pouvait pas passer inaperçue par la grande presse, et le résultat en fut ce que le Conseil général de Kharkow (zemstwo) a mis à la disposition de l'Institut vétérinaire de Kharkow 2000 roubles pour poursuivre les expériences sur la peste bovine.

Ces expériences, entreprises par le prof. Sadowski, en collaboration avec MM. Trofimow et Konew, n'ont pas été terminées non plus.

Les communications signalées plus haut de MM. Semmer, Rajewski et Sadowski ont été considérées jusqu'à 1895 comme les seuls documents scientifiques existant au sujet des injections préventives contre la peste bovine, c'est-à-dire jusqu'à

l'époque où le prof. Nencki, chef de service de chimie à l'Institut de Médecine Expérimentale, commença de nouvelles recherches sur l'étiologie de la peste dans le but de trouver les moyens de lutter contre cette maladie.

Quand on examine de près les travaux cités plus haut, on s'aperçoit facilement que malgré l'importance très grande que présente la question des injections préventives au point de vue pratique et théorique, celle-ci doit être considérée comme entièrement ouverte.

En 1894 des propriétaires du Caucase du Nord se sont adressés à Son Altesse le Prince d'Oldenbourg en le sollicitant d'instituer des recherches scientifiques bien rigoureuses sur la receptivité vis-à-vis de la peste des brebis à poil fin de race espagnole, qui s'étaient acclimatées en Caucase; ils ont ajouté qu'ils désireraient en plus que l'on entreprît sur une grande échelle des expériences sur l'immunisation contre la peste bovine. Comme l'Institut avait à sa disposition des sommes allouées à cet effet par le compte Orloff-Davidoff, il a été décidé, sur l'ordre de Son Altesse le Prince d'Oldenbourg et après délibération du Conseil, de donner satisfaction aux propriétaires de Caucase, en organisant une mission, sous la direction du prof. Nencki, membre actuel de l'Institut.

Cette mission, après un grand nombre d'expériences sur l'inoculation par la voie naturelle et expérimentale, arriva à cette conclusion que les brebis de race espagnole sont seulement un peu moins sensibles vis-à-vis de la peste bovine que les animaux de grande taille. Les recherches sur la peste bovine, commencées dans la région de Kouban en été 1895, ont été ensuite poursuivies à l'Institut de Médecine Expérimentale jusqu'à la fin 1898, d'abord dans le laboratoire de Chimie à l'Institut, puis à la station Expérimentale à Iknewi, dans le gouvernement de Tiflis.

Déjà en 1896 le prof. M. Nencki, en collaboration avec M-me N. Sieber, a fait une communication dont il ressort que le sérum des animaux guéris de peste contient une substance pouvant conférer à un animal sain l'immunité contre la peste bovine.

Il a été de la sorte tracée la voie qui promettait du succès; on a dû cependant réaliser encore un grand nombre d'expériences afin d'élaborer des méthodes appropriées, car le sérum des animaux guéris de peste, se montra très peu actif. En augmentant de plus en plus les doses de virus injecté, comme cela est pratiqué pour les sérums curatifs — antidiphtérique, antistreptococcique et antistaphylococcique —, le prof. Nencki essaya d'augmenter la résistance des animaux. Etant données certaines particularités que présente l'immunisation contre la peste bovine, il a dû élaborer une série de nouvelles méthodes, en ce qui concerne, par exemple, la manière de recueillir le sang, d'empêcher la coagulation, d'obtenir du sérum et encore certains autres détails de technique.

Par une coïncidence fortuite, il se déclara aussitôt après une épidémie de peste bovine dans l'Afrique du sud, et plusieurs savants étrangers se sont mis à l'étude de la peste et à la préparation du sérum antipesteux. Le prof. Nencki accueillit avec joie ces travaux qui confirmaient ses propres recherches sur l'immunisation contre la peste bovine.

Ces travaux, exécutés dans l'Afrique du sud, appartiennent à MM. R. Koch,

Danysz, Bordet, Taylor, Kohlstock, Kolle, Turner et Eddington. En Turquie des recherches sur le même sujet ont été faites par MM. Nicolle, Adil-Bey et Resfik-Bey, en Japon — par M. Tokischighe.

Les recherches sur l'immunisation, commencées dans différentes parties du monde en même temps et indépendamment les unes des autres, ont toutes abouti aux mêmes résultats. Ce fait à lui-même fut déjà une garantie suffisante pour considérer les résultats comme reposant sur une base expérimentale bien établie.

Lorsque les expériences, instituées en 1897 à l'Institut de Médecine Expérimentale, montrèrent que le sérum des animaux solidement immunisés contre la peste, possède la propriété de préserver contre la peste des animaux neufs, le prof. Nencki demanda à Son Altesse le Prince d'Oldenbourg, le curateur de l'Institut, l'autorisation d'appliquer en grand la méthode qu'il a trouvée en collaboration avec N. Sieber et W. Wyżnikiewicz.

Vers la fin de l'année 1897 il a été organisé, avec l'autorisation de Son Altesse le Prince d'Oldenbourg, une station expérimentale à Iknewi, propriété qui est située à 18 kilomètres de la ville Gori, du Gouvernement Tiflis et est entourée de tous côtés de montagnes. Du mois de février jusqu'à la fin de l'année 1898 on a injecté préventivement plus de 800 animaux — boeufs, vaches, veaux, buffles, chèvres et brebis — et toujours avec des bons résultats. Tous les animaux ayant reçu les injections à titre préventif, notamment les animaux de grande taille qui sont cependant très sensibles à la peste, sont devenus complètement refractaires à la contagion pour un temps assez long.

Le procédé d'immunisation élaboré par le prof. Nencki et ses collaborateurs, consiste en ceci.

Pour avoir du sérum, on s'adresse de préférence à des animaux à cornes, de grande taille. Dans les endroits où se trouvaient des animaux guéris de la peste bovine, on peut se servir de ces derniers pour abréger la durée de l'immunisation; à défaut de tels animaux, on choisit un boeuf (ou une vache) fort et bien portant, on lui inocule sous la peau 0.2 ccm de sang pesteux et deux heures après on lui injecte une dose préalablement déterminée de sérum antipesteux. Aussitôt que l'animal est rétabli, on renouvelle les inoculations de sang pesteux, en quantités de plus en plus croissantes, de 1—5 ccm jusqu'à 5 litres de sang pesteux et davantage. L'animal se trouve de la sorte au bout de plusieurs mois saturé de virus au maximum. A la suite des ces inoculations répétées de virus pesteux, à des doses croissantes, l'animal élabore des quantités de plus en plus grandes des substances sensibilisatrices specifiques (Immunkörper) qui viennent s'emmagasiner dans le sang. Plus la quantité de sang pesteux inoculé est forte, plus actif est le sérum fourni par cet animal et d'autant meilleurs sont les résultats lorsqu'on cherche à rendre refractaires à la peste des animaux sains. Le sérum obtenu dans ces conditions, préserve contre la peste un animal sain à la dose variant de 10 à 30 ccm. Un boeuf solidement immunisé peut fournir assez de sérum pour conférer l'immunité à près de 300 animaux à cornes et de grande taille.

Voici comment on procède pour conférer l'immunité à un animal bien portant: on lui injecte sous la peau 0.2 ccm de sang pesteux, puis 2—4 heures après, suivant

la force du sérum que l'on a évaluée antérieurement, on injecte de 20 à 50 ccm de sérum très actif. Lorsqu'on détermine l'activité du sérum, il faut savoir que l'animal inoculé avec 0.2 ccm de sang pesteux, ne doit pas être bien malade, et tout au plus, s'il doit présenter dans ce cas une élevation de température au 5^me^ ou au 10^me^ jour. En procédant ainsi, on élimine, primo, la possibilité de propagation de la maladie, secundo, on évite les avortements prématurés et, tertio, on ne supprime pas la sécrétion de lait.

Après 10—14 jours, selon les animaux, on injecte de 0.2 à 0.5 ccm de sang pesteux, après quoi les animaux deviennent solidement immunisés. A la suite de cette deuxième injection, ils ne réagissent pas du tout ou bien présentent quelques légers symptômes morbides [1]).

En octobre 1898 le ministère de l'intérieur envoya, d'accord avec Son Altesse le Prince d'Oldenbourg, une Commission à Iknewi afin de contrôler la méthode d'immunisation découverte par le prof. Nencki et ses collaborateurs; cette Commission fut composée des représentants du ministère de la guerre et du ministère de l'intérieur.

Voici les conclusions adoptées par la Commission dans sa dernière séance du 10 décembre 1898.

1. La possibilité de conférer aux animaux (animaux à corne de grande et de petite taille) l'immunité contre la peste bovine, par le procédé du prof. Nencki, est incontestable.

2. L'importance scientifique et pratique de cette question est de nature à faire désirer des nouvelles expériences et plus étendues dans cette voie, aussi bien dans des laboratoires qu'en pratique; il est désirable que les autorités compétentes leur accordent leur plus grand concours.

Il semblerait que dès lors les recherches si heureusement commencées ne devraient pas être suspendues; mais en réalité lorsqu'il s'est agi de pratiquer les vaccinations en grand, on se heurta à des difficultés, de sorte que la station d'Iknewi a dû être fermée, et la loi du 3 juin 1879 rendant obligatoire la mise à mort des animaux malades et suspects de peste, fut de nouveau mise en vigueur dans la région transcaucasienne.

Certes, c'est à cette mesure que depuis bientôt vingt ans toute l'Europe, la Russie, le Caucase du nord et les 6 gouvernements et régions de la Russie asiatique doivent l'avantage d'être débarrassés de cet ennemi terrible qu'est la peste bovine; mais il faut aussi tenir compte de ce fait qu'à cette époque-là l'état de la science vétérinaire fut tel que véritablement il n'existait pas d'autre moyen rationnel pour lutter contre cette épizootie. Mais à l'heure qu'il est il est temps d'abandonner cette mesure primitive de mise à mort et d'adopter une méthode plus rationnelle, plus conforme à nos connaissances actuelles, n'exigeant pas de grosses dépenses d'argent et cela surtout dans les régions lointaines, où l'épizootie dévaste des pays entiers et où la lutte est d'autant plus difficile que les conditions locales s'y prêtent mal et que ces pays sont très éloignés des centres de civilisation.

---

[1]) Voir dans les Archives des sciences biologiques **7**, 303. — Ce volume p. 683.

M. Grodekoff, le gouverneur général de la région d'Amour, s'est rendu compte combien il était difficile de lutter contre l'épidémie en sacrifiant des animaux malades; ayant appris que le prof. Nencki de l'Institut de Médecine Expérimentale a trouvé un moyen sûr de combattre la peste par des injections préventives, il s'adressa au commencement de l'année 1899 à Son Altesse le Prince d'Oldenbourg en le priant d'organiser dans la région transbaïcalienne une station ayant pour but de préparer du sérum antipesteux et de pratiquer des injections préventives sur le bétail des Cosaques, qui était trés éprouvé par l'épidémie pesteuse.

Ainsi, les cosaques de la région transbaïcalienne ont perdu des animaux à cornes: en 1897 — 3536, en 1898 — 21 110 et en 1899 — 38965, en tout 63611 animaux. En admettant que la valeur moyenne de chaque animal était de 30 roubles, cela fera au total une perte de 1 908 330 roubles.

La perte totale éprouvée par les cosaques, les paysans et les étrangers de la région transbaïcalienne à la suite de la peste, se traduit par les chiffres suivants: en 1897 il est mort 8258 animaux à cornes, en 1898 — 70083, en 1899 — 73609, total — 151 950 animaux ce qui représente une perte de 4 558 500 roubles.

En présence de ces faits, le gouverneur général Grodekoff a cru nécessaire d'attirer l'attention des autorités sur ce que „l'extension croissante de l'épizootie, ajoutée aux malheurs résultant de l'inondation de 1897, de la mauvaise récolte et de l'épidémie de charbon de 1898, pourrait avoir pour effet la ruine complète de la population transbaïcalienne qui vit de l'élevage du bétail“.

On décida alors de prendre des mesures plus énergiques contre l'extension de l'épizootie pesteuse. Mais comme le territoire de l'armée transbaïcalienne de cosaques se touche avec la Mongolie et la Mandchourie dans une étendue de 1600 kilomètres, il fut impossible de prendre des mesures quarantenaires, celles-ci devant entraîner des dépenses pecuniaires énormes.

En plus, le personnel vétérinaire en nombre insuffisant, l'extension trop grande de l'épizootie dans la région transbaïcalienne et la possibilité toujours menaçante du transport du virus de Mongolie, faisaient que la mise en vigueur de la loi du 3 juin 1879 ne pouvait pas donner des résultats favorables. Il est évident qu'en pareilles conditions il aurait fallu dépenser des sommes énormes, si on voulait tuer tous les animaux, chose impossible étant données les ressources locales.

D'autre part, on savait 1. que dans l'Afrique du sud on a réussi, grâce à l'application du sérum antipesteux, à enrayer l'épidémie de peste; 2. que, en Russie, un sérum semblable a été l'objet de recherches du prof. Nencki et de ses collaborateurs et 3. que ce sérum, comme l'ont démontré les expériences faites à la station de Iknewi, confère incontestablement l'immunité vis-à-vis de la peste.

Tout ceci réuni a fait que le ministère de la guerre surtout à la suite de l'avis très favorable de M. Remmert, le médecin inspecteur général de l'armée, sur l'utilité des station antipesteuses, se rallia à la demande adressée par le Gouverneur général Grodekoff à Son Altesse le Prince d'Oldenbourg, en le sollicitant de faire ouvrir le plus tôt possible par l'Institut de Médecine Expérimentale une station ayant pour but de préparer du sérum antipesteux, ce dernier devant être injecté à titre

préventif à des animaux à cornes dans tous les villages et agglomérations faisant partie de la région transbaïcalienne.

L'organisation et la direction de la station m'a été confiée comme au plus proche collaborateur du prof. Nencki. J'avais pour adjoint le médecin vétérinaire M. Doudoukalow, qui a également travaillé auparavant sous la direction du prof. Nencki.

Les recherches sanitaires ainsi que les infections préventives ont été faites dans les quatre districts de la région transbaïcalienne par quatre médecins vétérinaires militaires, que M. Remmert envoya dans la station transbaïcalienne de la part du ministère de la guerre: ce furent M. Nicolsky, attaché au gouvernement de Wilno, M. Zwetkoff, attaché au gouvernement de Kieff, M. Grigorowitch de 37[me] d'artillerie et M. Rous, du 1[er] bataillon. Ces quatre médecins vétérinaires ont eu pour aides 9 infirmiers vétérinaires envoyés des gouvernements de St.-Pétersbourg, de Wilno et de Moscou.

Afin d'accélerer l'organisation du laboratoire, l'Institut de Médecine Expérimentale nous envoya M. Kroupski, serrurier-mécanicien. On embaucha également plusieurs ouvriers; puis, la station disposait de 15 cosaques à cheval ayant pour mission de garder les biens de la station, celle-ci étant très éloignée de la ville et située dans une localité déserte.

Les appareils, les instruments et tout l'outillage du laboratoire ont été fournis par l'Institut; c'est l'Institut également qui payait le directeur, son adjoint et le serrurier-mécanicien; quant à l'achat du bétail, sa nourriture et autre dépenses de la station antipesteuse — c'est le ministère de la guerre qui s'en chargea.

On a pensé d'abord installer la station dans la ville Troïtzkosawsk, située, sur la route que prend le bétail pour aller de Mongolie dans la région transbaïcalienne; il y a là de grandes casernes que l'on aurait pu utiliser pour la station antipesteuse.

Mais après l'inspection des lieux, on a vu que ces maisons sont situées dans la ville même, qu'une bonne moitié est occupée par divers établissements et que les autres, en raison de leur vétusté et incommodités, demanderaient des dépenses considérables, sans compter que ces réparations exigeraient un temps assez long.

Voici pourquoi nous avons dû renoncer à la ville Troitzkosawsk et chercher ailleurs. Nous avons visité les casernes à Seltchischna, différentes maisons dans les villages Schelopouginski, Akschinsky, dans la ville Nertchinsk, mais tous ces bâtiments ne pouvaient pas être aménagés pour une station.

Le choix définitif de l'emplacement pour la station eut lieu le 18 août 1899. Ce fut dans la propriété Maroussino, située à 12 kilomètres de la ville Tchita et appartenant à la maison de commerce P. Badmaeff et Co. A l'ouest de cette propriété se trouve le lac Kamischski, à l'est — la rivière Tchita, au nord — un village bouriate, au sud — des terrains appartenant à la ville. Il y a plusieurs années cette propriété fut occupée par une ferme laitière, un abattoir et des écuries pour l'élevage de chevaux, et à cet effet on a construit beaucoup de maisonnettes en bois. La propriété mesure 20 dessiatines; la longueur de la cour est de 253 sazchen, la largeur — de 183 sazchen. Tous les bâtiments et la cour ont été cédés

à la station à titre gratuit par la maison P. Badmaeff et Co, sur la demande personnelle du prof. Nencki.

La mise à neuf des bâtiments et les réparations ont été commencées le 16 septembre. Grâce au concours des autorités locales, les travaux avancaient rapidement; ils ont été terminés au commencement du novembre. Le maire de la ville Tchita, M. Khlinowski qui a bien voulu se charger de la surveillance des travaux, nous a rendu un service signalé. Avant le commencement des travaux tous les bâtiments se trouvaient dans un état de délabrement tel qu'il était impossible d'y habiter; les travaux étant terminés, une commission nommée par le gouverneur général transbaïcalien et l'ataman, inspecta les bâtiments; tout ce qui était nécessaire pour la station antipesteuse, fut réalisé.

Un vaste hangar à deux étages fut transformé en deux maisons, dont une était destinée pour le laboratoire et l'autre — pour les logements des médecins vétérinaires. En plus de cela, il y avait deux petites maisons pour le directeur et son adjoint, puis une série des maisonnettes pour les cosaques, les infirmiers, les ouvriers, la cuisine, les bains, la glacière, la menuiserie, la ferronerie, les écuries, les hangars pour le foin, enfin des locaux aménagés pour les opérations sur les animaux. Tous ces bâtiments ont pu être séparés les uns des autres par des espaces libres grâce à des dimensions considérables de la cour.

Les dépenses nécessitées par l'exécution de tous ces travaux s'élevèrent à la somme de 9725 roubles, 88 kopecks; la municipalité de la ville Tchita a fait un don de 1000 roubles. Le ministère de la guerre donna 40310 roubles pour couvrir les frais des vétérinaires militaires, pour l'achat des animaux et l'entretien de la station, du mois du juin 1899 jusqu'au 1^er^ janvier 1901. L'Institut de Médecine Expérimentale dépensa 10 000 pour l'achat des instruments, des appareils et d'ameublement des laboratoires, puis 12789 roubles pour les appointements du directeur, de son adjoint et du mécanicien-serrurier, ce qui représente au total — 22760 roubles. Si l'on y ajoute les frais d'installation indiqués plus haut, on aura dépensé en tout la somme de 72815 roubles 88 kopecks depuis la fondation de la station jusqu'au 1^er^ janvier 1901.

Le laboratoire a coûté à l'Institut de Médecine Expérimentale 10 000 roubles, et il est très bien organisé.

Il y a là une petite bibliothèque, une chambre pour faire de la photographie, des microscopes, différents appareils, des instruments, une grande provision des produits chimiques, des couleurs, de la verrerie et d'autres objets indispensables pour les recherches bactériologiques et microscopiques. Tout ceci est réparti dans quatre grandes pièces convenablement meublées, servant de laboratoires aux médecins militaires et civils. Le laboratoire est si bien organisé qu'il peut servir non seulement pour les recherches sur la peste bovine, mais encore pour l'étude d'autres questions scientifiques.

Depuis l'inauguration de la station, elle a reçu 18 medecins vétérinaires, envoyés pour étudier la question des injections préventives, à savoir: 1 de Bulgarie, 1 de la région d'Amour, 1 de la région Semiretchinsk, 11 de la région transbaïcalienne et 4 militaires.

Au 1^er^ novembre 1899 la station fut complètement terminée. Tous les bâtiments ont été finis, on possédait une provision nécessaire des fourrages et 60 boeufs ayant bien supportés l'injection préliminaire et destinés à fournir du sérum.

Vers le 1^er^ janvier 1900 les vétérinaires et les infirmiers sont revenus de leur tournée d'inspection dans les différents villages qu'ils ont entreprise dans le but de se rendre compte du degré de l'extension de l'epizootie et aussi dans le but de familiariser la population avec les injections préventives que l'on avait l'intention de faire gratuitement dans tous les villages qui en feraient une demande à la station.

Jusqu'au 9 mars 1900 on a reçu des demandes collectives de 353 communautés ayant exprimé le désir d'immuniser préventivement leur bétail s'élevant au nombre de 187 259 animaux. Dans la région transbaïcalienne nous avons reçu des demandes de 67 villes et 408 villages. La totalité des animaux qui s'y trouvait vers le 1^er^ janvier 1900, attint le chiffre de 241 951.

Dans les localités saines, la station a dû renoncer à pratiquer des injections préventives faute des quantités suffisantes de sérum. Pour immuniser 187 000 animaux, il aurait fallu travailler près de 5 ans, ou bien augmenter la fabrication du sérum, c'est-à-dire, au lieu de 50 boeufs dont disposait la station, il aurait fallu en entretenir 200—300; ce qui aurait démandé des dépenses très considérables. Comme il était impossible de donner satisfaction à toute la population avec 50 boeufs, on utilisa, en plus, 23 autres animaux qui ont servi de témoins lors des premiers essais du sérum.

Le nombre total des animaux, entretenus par le ministère de la guerre, et destinés à fournir du sérum, s'élevait donc à 73. Outre cela, la station demanda au Comité d'intendance 5000 roubles pour l'achat et l'entretien de 20 boeufs. Le Gouvernement transbaïcalien, pour venir en aide aux paysans et à la population bouriate de la région, fit un don de 1470 roubles destinés à acheter et à entretenir 7 boeufs. De la sorte la station transbaïcalienne disposait au mois de janvier 1901 — de 106 animaux fortement immunisés, prêts à fournir du sérum antipesteux.

Les travaux exécutés à la station antipesteuse nécessitaient des animaux de taille forte et moyenne; les premiers servaient à la préparation du sérum, les deuxièmes — fournissaient du sang pesteux et étaient voués, par conséquent, à être sacrifiés. Selon les prix des animaux celui du sérum antipesteux varie également. Des boeufs solides, bons à fournir du sérum, se vendent au prix de 70 roubles par tête; les boeufs ordinaires ne valent pas moins de 26 roubles; le foin et payé 25 et même 50 kopecks le poude, l'avoine — 1 rouble 40 kopecks le poude; les ouvriers ne sont pas payés moins de 30 roubles par mois. Les produits alimentaires étaient très chers grâce à la construction du chemin de fer transbaïcalien et tout dernièrement par suite de la guerre avec les Chinois. Toutes ces circonstances ne pouvaient ne pas retentir sur le prix du sérum. Actuellement une dose de 40 ccm ne coûte pas moins de un rouble, mais ce prix pourra être notablement abaissé quand on aura augmenté le nombre d'animaux à immuniser, quand on aura acheté des boeufs en Mongolie, où ils sont moins chers, quand on aura préparé le foin soi-même etc.

On pourra se rendre compte combien étaient élevés les prix qu'il fallait payer

dans la Transbaïcalie les boeufs, les fourrages et les ouvriers si on les compare à ceux du district Gori, gouvernement de Tiflis, où l'Institut de Médecine Expérimentale à installé (à Iknewi) une station antipesteuse; or, dans cette dernière, où le prix d'une dose de sérum revenait à 30 kopecks, un bon boeuf peut-être acheté en automne 25—30 roubles, une vache — 12 à 15 roubles, des boeufs ordinaires — 6 à 10 roubles.

L'ouvrier est payé 12—15 roubles par mois, sans nourriture; la manoeuvre sans nourriture est payée 30—50 kopecks par jour. Quant aux fourrage, les boeufs pouvaient paître presque pendant toute l'année sur les magnifiques pâturages des montagnes.

Le premier lot de sérum (295 litres) fut obtenu et essayé à la station transbaïcalienne au mois de mai 1900. Ce sérum fut expédié dans le district Akschinsky, où on a injecté le bétail du 9 au 18 juin, dans les foyers de peste suivants: dans la ville Akscha, dans les villages Akschinsky, Kirpitchni, Touloutaewski, Narassounski et Nijni-Oulkhounski, ainsi que dans les villages Oulatchi et Onkosk; il a été injecté 3176 animaux appartenant aux cosaques, 1060 — aux bourgeois, 824 — aux paysans et 911 — aux étrangers, en tout 6021; on a immunisé, en plus, 567 animaux malades ou suspects de peste.

L'immunisation était pratiquée en une fois (c'est-à-dire sans fixation ultérieure de l'immunité) afin de démontrer sur plusieurs milliers d'animaux 1. qu'au moyen du sérum antipesteux, il est possible du juguler rapidement une épizootie dans des localités infestées et 2. que les injections pratiquées sur une grande échelle, ne menacent aucunement les villages indemnes de la maladie.

Partout on injectait au moyen d'une seringue de Pravaz 0.2 ccm de virus pesteux au niveau de l'encolure gauche, puis 40 ccm de sérum sous la peau, dans la région inguinale droite. Bien que l'on ne fît pas suivre l'injection de fixation d'immunité, 10 jours après, les résultats obtenus ont été très favorables: l'épizootie pesteuse qui a été constatée dans six différents points, cessa quelques jours après les injections et ne reparut plus jusqu'à l'heure actuelle, ce qui fait 15 mois; quant aux deux localités indemnes, elles le sont restées jusqu'à présent, ce qui prouve que l'immunisation des animaux ne fait courir aucun risque aus localités saines. Fait intéressant à noter, 537 animaux qui se trouvaient dans des foyers de peste et ont présenté une élevation de température jusqu'à 40—41°, ont guéri après l'injection d'une double dose de sérum; puis, sur 30 animaux, manifestement atteints de peste et injectés avec une dose triple de sérum, à titre d'essai, 19 ont guéri, alors que les animaux non injectés sont morts tous. Autre fait important, sur 6021 animaux sains, injectés avec du virus et du sérum, il n'y a pas eu un seul cas de mort. Il était donc clair que le sérum antipesteux, même non suivi de fixation de l'immunité, peut rendre des services signalés dans la lutte contre l'épizootie pesteuse et surtout lorsque le service est bien organisé, c'est-à-dire, lorsque les animaux manifestement malades sont sacrifiés, les écuries infestées sont soumises à la desinfection et les prescriptions sanitaires sont rigoureusement suivies.

Dans deux localités, où les injections ont été faites, Akscha et Oureisk, éclata une nouvelle épidemie de peste à la fin du juillet et au commencement d'août; 327

animaux ont péri (un peu plus de 10⁰/₀). Ceci doit être attribué d'abord au fait que certains propriétaires ont refusé d'immuniser leur bétail, puis, à ce fait que les injections préventives n'avaient pour but que d'arrêter le plus rapidement possible la marche de l'epizootie et c'est pourquoi on ne cherchait pas à fixer l'immunité.

Des observations faites dans la région transbaïcalienne sur les avantages de divers modes d'immunisation, ressort avec netteteté cette conclusion que dans des foyers de peste il faut chercher non seulement à éteindre l'épidémie, mais, en plus, il faut conférer aux animaux injectés une immunité stable pour un temps assez long, ce qui peut-être obtenu si, 10—20 jours après la première injection, on inocule aux animaux 0.2 ccm de sang pesteux.

Nous en avons eu une preuve au cours de nos recherches dans la région transcaucasienne: 200 animaux solidement immunisés en 1898 et depuis mis plusieurs fois en contact (pour contrôler leur immunité) avec les animaux pesteux, sont restés jusqu'à présent (soit, pendant plus de 2 ans) réfractaires à la peste, il en est de même pour les injections ayant été pratiquées en automne de l'année dernière dans la Transbaïcalie. A l'heure actuelle, c'est-à-dire au commencement du juin 1901, tous les animaux immunisés en automne de l'année dernière et réinoculés ensuite avec du sang pesteux afin de fixer l'immunité, sont bien portants, tous sans exception, bien que la peste ait sévi partout, dans les environs.

Vers la fin du mois d'août 1900 la station transbaïcalienne prépara et essaya le deuxième lot de sérum (280 litres) lequel a été injecté dans les localités suivantes atteintes de peste:

à Tchita	2 septembre	1200
à Sretiensk	28 septembre	528
à Matakaj	30 septembre	183
à Nertchinsk	1 octobre	448
à Bronnikoff	7 octobre	691
à Oust-ilia	17 et 27 octobre	497
à Oureisk	1 et 10 novembre	160
à Tokhtora	15 novembre	113
à Akscha	23 novembre	85
à Village Chichkin	20 décembre	400
à Village Verkhne-Tchita	décembre	600
	Total....	4905

Dans toutes ces localités les injections préventives ont été pratiquées de la même façon. On compulsait des listes complètes d'animaux et on informait les habitants en quel endroit et à quelle époque on allait faire les injections. Après 1—2 jours tous les animaux réunis au même endroit étaient examinés, on leur prenait la température, puis on les timbrait sur les cornes ou sur les extrémités; on marquait les veaux aux oreilles avec des pinces. A des animaux sains on injectait du sang pesteux et du sérum; quant aux animaux malades, qui montraient une élevation de température, on les timbrait d'une façon particulière et on leur injectait du sérum à des doses doubles ou triples. Dix jours après on examinait soigneusement tous les animaux, on leur prenait la température, puis on leur inoculait 0.2 ccm de sang pesteux. Un certain nombre d'animaux réagissaient à cette inoculation en

manifestant quelques symptômes morbides, d'autres, au contraire, réagissaient très peu. Ces inoculations ont donné une mortalité de $^{1}/_{4}$ %. Les observations faites ensuite par les vétérinaires ont montré que la peste cessa partout où l'on a pratiqué les injections.

Malheureusement, malgré toutes les mesures que l'on avait prises, on n'a pas réussi à immuniser tout le bétail dans les régions infectées. Un certain nombre (près de 15 %) n'ont pas été amenés par les propriétaires, d'autres ont échappé à la fixation de l'immunité, et cela parce que plusieurs propriétaires ne voulaient pas se donner la peine d'amener leur bétail; mais ces temps derniers la confiance dans les injections augmenta et tous ont répondu à notre appel.

Ainsi, dans le courant de l'année 1900 il a été injecté 12 383 animaux, dans 17 points différents de la Transbaïcalie, avec deux lots de sérum (575 litres). Mais cela ne suffisait pas pour arrêter l'épizootie partout, étant donné que les ressources dont disposait la station, grâce aux dons du comte Orloff-Davidoff et à la subvention du ministère de la guerre, ne permettaient pas de fabriquer la quantité de sérum nécessaire. Ainsi, en automne de l'année dernière il y eut dans la région 40 localités atteintes de peste, alors que les injections pouvaient être pratiquées dans un nombre beaucoup plus restreint d'endroits. Il faut, en plus, tenir compte de grandes diffucultés que l'on éprouve dès l'apparition de la saison froide quand la température descend jusqu'a 40° au-dessous de zéro; il devenait impossible d'opérer dans ces conditions à ciel ouvert, puis le sérum gélait dans les flacons et dans les seringues. Malgré tout cela, la station n'a pas pu refuser des demandes pressantes qui lui arrivaient et on a continué à faire des injections pendant tout l'hiver 1900—1901. Par suite de très grands froids on inoculait les animaux dans les maisons de paysans; en tout, il a été inoculé 6000 animaux. En tout cas, les temps les plus difficiles sont déjà traversés par la station. Dans tous les points où les injections ont été faites, la peste a disparu et c'est là une preuve très démonstrative de l'efficacité de ce nouveau procédé dans la lutte contre les épizooties. Les demandes des inoculations nous parviennent des régions infectées, en nombre de plus en plus considérable.

On demande également du sérum en grande quantité dans les régions Amourski et Primorski. Enfin, les médecins vétérinaires qui jusqu'ici considéraient que le seul moyen efficace pour combattre la peste consistait à tuer les animaux malades et suspects, sont devenus, depuis qu'ils ont pu voir de près la méthode des injections, des partisans profondément convaincus et ardents de cette nouvelle méthode, qui est à la fois plus humaine et moins coûteuse que l'ancienne.

Des vois de plus en plus nombreuses s'élevèrent en faveur de l'immunisation, comme mesure devant être préscrite par l'Etat et finalement au commencement de l'année courante 1901 le ministère de l'intérieur dont relèvent toutes les questions vétérinaires, consentit à admettre l'immunisation comme un moyen général pour la lutte contre l'épizootie, au même titre que la mise à mort.

La station, fondée par l'Institut de Médecine Experimentale près Tchita, dans la Transbaïcalie, avec le concours du ministère de la guerre, après l'autorisation de Son Altesse le Prince d'Oldenbourg et du ministère de la guerre, fut remise au ministère de l'intérieur comme devenant sa propriété, de même que tout

l'inventaire de l'ancienne station d'Iknewi dans la région transcaucasienne, qui a eu également pour but la préparation du sérum antipesteux.

Avant de remettre l'inventaire de la station de Tchita dans les mains du ministère de l'intérieur, il a été décidé de saigner à blanc tous les animaux bien immunisés afin d'avoir à notre disposition d'emblée une grande quantité de sérum.

D'une façon générale je suis arrivé à cette conclusion qu'il est plus utile et moins coûteux de saigner à blanc les animaux fortement immunisés, des qu'ils ont atteint un certain degré d'immunité, c'est-à-dire dès que l'animal avait reçu en tout 12 litres de sang pesteux. Ce procédé est depuis plusieurs années adopté à l'Institut de Médecine Expérimentale par le dr. Dzierzgowski pour le sérum antidiphtérique, et il revient encore à bon compte même dans le cas où la viande de cheval ne peut-étre employée à autre chose qu'a la nourriture des chiens. Ce modus procedendi appliqué aux boeufs fortement immunisés présente encore d'autres avantages.

1. Des expériences comparatives m'ont prouvé qu'en saignant à blanc une seule fois, on a plus de sang, resp. du sérum que lorsqu'on fait d'abord quelques saignées partielles et que l'on saigne ensuite l'animal à blanc. Dans le premier cas on obtient 18—20 litres, tandis que dans le deuxième on n'a que 15 litres de sérum.

2. Des boeufs immunisés contre la peste bovine ne peuvent pas fournir de sérum pendant plusieurs années, comme c'est le cas pour les chevaux que l'on immunise contre la diphtérie et que l'on maintient à un haut degré d'immunité par des injections répétées de toxine. Tant que l'on ne pourra pas cultiver le microbe de la peste bovine dans des milieux artificiels, on est obligé de se servir pour l'immunisation du sang pesteux. Or, à la suite d'injections répétées du sang pesteux en grandes quantités, il se forme chez l'animal, au niveau des inoculations, des adhérences du tissu conjonctif. Après la 2^{me} ou la 3^{me} saignée, l'animal ne présente plus à la surface du corps d'endroit exempt de ces adhérences ce qui rend difficile les injections ultérieures du sang pesteux.

3. On a besoin d'un moins grand nombre d'écuries.

4. La vente de la peau, de la viande etc. des animaux saignés à blanc fait rembourser les $^{7}/_{10}$ de la valeur primitive de l'animal. Ainsi, par exemple, on achetait les boeufs pour 70 roubles, et on les vendait après la saignée, en moyenne, pour 50 roubles. La viande de nos animaux qui étaient bien nourris, était même très recherchée, et les consommateurs la payaient au boucher deux copecks plus cher par pfound que la viande ordinaire.

Les 106 boeufs de la station, après avoir été saignés à blanc, ont fourni un peu plus de 9 héctolitres de sérum très actif.

La quantité de sérum, obtenu par le procédé de Nencki, représentait 65 $^{0}/_{0}$ de la masse totale de sang. Ce sérum fut employé en partie dans la région transbaïcalienne, en partie il fut expédié dans la région Sémiretchinsk, et en majeure partie — dans la région Transcaucasienne.

Après que la station ait été remise au ministère de l'intérieur et que l'immunisation ait été reconnue par l'Etat comme un moyen utile au même titre que la mise à mort, la tâche de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale pouvait être considérée comme terminée. La station de Maroussino, près Tchita, fondée par l'In-

stitut, prouva d'une façon nette et démonstrative que la méthode d'immunisation élaborée par le prof. M. Nencki et ses collaborateurs, atteint entièremeut son but et constitue un procédé moins couteux pour l'Etat que la mise à mort des animaux pesteux. Les adversaires de l'immunisation déclarent qne ce procédé est trop coûteux, mais l'expérience de tous les jours nous montre qu'une méthode même coûteuse au début, subit journellement des perfectionnements qui en diminuent notablement les dépenses. L'immunisation pratiquée en Sibérie orientale et inaugurée dans des conditions climatériques et sociales des plus défavorables, gagna aussitôt la confiance des autorités et de la population, même celle des bouriates qui se prêtent généralement mal à des innovations. La population qui fut d'abord sceptique, après avoir acquis à plusieurs reprises la certitude de l'utilite des immunisations, témoigna sa confiance à la station en lui offrant ses services et un concours pécuniaire. En ce moment la station est littéralement assiégée par des demandes des injections préventives.

Etant obligé de quitter la station près Tchita, je me suis trouvé, malheureusement, dans l'impossibilité de terminer des recherches que je me suis proposé de réaliser au sujet du lait des vaches fortement immunisés d'après M. Nagorski.

Pendant que le présent article était encore sous presse, il a paru dans le Nr. 6 des Archives des Sciences Vétérinaires 1901 un travail du professeur Kolle, traduit sur le manuscrit allemand encore inédit. Je doute fort que les amis russes de M. Kolle s'en montrent satisfaits. Dans ce travail M. Kolle ne souffle pas un mot sur la différence qui existe entre son procédé dit simultané et celui de M. Nencki et ses collaborateurs; il ne fait que constater avec beaucoup d'esprit que les vaccinations contre la peste bovine, pratiquées en Russie avec du sérum, ont donné des résultats très favorables. Voilà depuis bientôt cinq ans que je poursuis l'étude de l'immunisation contre la peste bovine, et en m'appuyant sur mon expérience personnelle, je tiens à mettre en garde ceux qui voudront suivre le procédé de MM. Kolle et Turner. Le fait est que tous les animaux immunisés par le procédé indiqué, ne supportent pas cette immunisation de la même façon; à côté des animaux qui ne réagissent presque pas, il y en a, par contre, d'autres, qui deviennent gravement malades. Dans le premier cas, on a besoin de renouveler les injections pour obtenir une immunité solide, dans le deuxième cas les animaux sont malades pendant assez longtemps, ils disseminent le virus par leurs excrétions et souvent même ils succombent à la cachexie. Or, la méthode d'immunisation, suivie de fixation d'immunité telle qu'elle a été élaborée par M. Nencki et ses collaborateurs, lève toutes ces grosses difficultés auxquelles on se heurte dans la pratique de vaccinations.

Im Jahre 1901 ist auch eine Berichtigung von Prof. Nencki in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft **34**, 201 erschienen. Diese kurze Bemerkung betrifft einige unrichtige Literaturangaben über das Methylmercaptan, welche im Buche von Dr. O. Cohnheim, Die Eiweisskörper (Braunschweig, Viewegs Verlag, 1900; auch als Sonderabdruck aus Roscoe-Schorlemmer's Lehrbuch der Chemie) zu finden sind. H.

Ueber Prof. Nencki's wissenschaftliche Thätigkeit erschienen seiner Zeit aus nlass seines 25 jährigen Jubiläums sowie nach seinem Tode mehrere Aufsätze in reng wissenschaftlichen sowohl wie auch in populären Zeitschriften. Es mögen er die Autoren der wichtigsten derselben aufgezählt werden.

J. Boguski, Wszechświat 1897, No. 6, 7 und 8.

M. Hahn, Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. **35** und Münchener Med. Wochenschrift 1901.

J. Heymans, Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie **10**.

M. Jakowski, Gazeta Lekarska 1901.

S. Kostanecki, Gallerie hervorragender Therapeutiker und Pharmakognosten der Gegenwart (Genf) 1895.

W. Leppert, Chemik Polski und Wszechświat 1901.

O. Loew, Maly's Jahresberichte für Thierchemie **31**.

H. Nusbaum, Gazeta Lekarska 1897 und 1901.

W. Palmirski, ibidem 1901.

J. Pruszyński, ibidem 1897 und 1901.

F. Röhmann, **Журналъ Министерства Народнаго Просвѣщенія. Петербургъ.** 1902.

С. Салазкинъ, Врачъ 1901.

N. Sieber, Münchener Med. Wochenschrift 1902 und Archives des sciences biologiques 1904.

W. Trzciński, Gazeta Lekarska 1897.

В. Завьяловъ, Записки Новороссійскаго Общества Естествоиспытателей. Одесса 1903.

SACHREGISTER.

Berichtigungen.

Zu Band I:

S. 17, Z. 6 v. o. lies: Chłapowski, Ziołecki statt: Chlapowski, Ziotecki.

S. 83, Z. 14 v. u. lies: $C_2O_2\left\langle\begin{matrix}O-C_2H_5\\ O-C_2H_5\end{matrix}\right.$ statt: $C_2O_2\left\langle\begin{matrix}O-C_2H_5S\\ O-C_2H_5\end{matrix}\right.$.

S. 116, Z. 11 v. o. lies: Kupferoxyd statt: Kupfersäure.

S. 148, Z. 6 v. o. lies: $\begin{matrix}C_{16}H_{13}N_2-NH\\ \quad\quad\quad\;\,|\\ C_{16}H_{13}N_2-NH\end{matrix}$ statt: $\begin{matrix}C_{16}H_{13}N_2-NH\\ \\ C_{16}H_{13}N_2-NH\end{matrix}$.

S. 177, Z. 10 v. u. lies: $\begin{matrix} & CO & - & NH\\ & | & & |\\ & NH & & CO\\ & | & & |\\ CH_3- & CH & - & NH\end{matrix}$ statt: $\begin{matrix} & CO & - & NH\\ & | & & |\\ & NH & & CO\\ & | & & |\\ CH_3- & CH & & N-NH\end{matrix}$.

S. 285, Z. 6 v. u. lies: NH_4Cl statt: H_4Cl.

Zu Band II:

S. 471, Z. 7 v. u. lies: Chloracetobrenzcatechin statt: Chloracetopyrocatechon.

S. 595, Z. 4 v. o. lies: Bourquin statt: Borquin.